

**BÄÄUNUNGSREAKTIONEN VON
REDUZIERENDEN ZUCKERN MIT
METHYLAMIN**

EIN BEITRAG ZUR MAILLARD-REAKTION

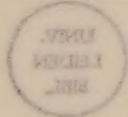
Edith Manninger

1976

BRÄUNUNGSREAKTIONEN VON REDUZIERENDEN
ZUCKERN MIT METHYLAMIN
EIN BEITRAG ZUR MAILLARD - REAKTION

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von
Edith Manninger
aus Passau

München 1976



Berichterstatter:

Prof. Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. H.-D. Stachel

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juni 1976

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter
Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Theodor Severin
am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Ludwig-
Maximilian-Universität München. Für seine großzügige Unter-
stützung und stets wohlwollende Hilfe möchte ich Herrn Prof.
Severin meinen herzlichen Dank aussprechen.

Inhaltsverzeichnis

Technischer Teil

Einleitung

1. Aufgabenstellung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

2. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

3. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

4. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

5. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

6. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

7. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

8. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

9. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Systems

10. Beschreibung des Systems zur Veranschaulichung des

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Meinen Eltern

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Theoretischer Teil	
Einleitung	1
A. Karamellisierung von Xylose mit Methylammonium=acetat	7
B. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in schwach basischem wäßrigen Milieu	
C. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in neutralem wäßrigen Milieu	12
D. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers	40
E. Untersuchung der farbigen Produkte aus Xylose Bräunungsreaktionen mit Hilfe der UV-Spektroskopie	53
F. Bräunungsreaktionen von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (<u>9</u>)	63
G. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in neutralem Milieu	67
H. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers	78
I. Methylierung von Fructose/Methylamin Bräunungs=gemischen	84
Untersuchungen zur Bildung des Fleischaromas	91
Zusammenfassung	93
Literaturverzeichnis	95

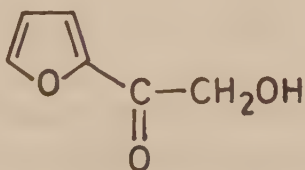
Experimenteller Teil

A. Karamellisierung von Xylose mit Methylammonium- acetat	99
B. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in schwach basischem wäßrigen Milieu	101
C. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in neutralem wäßrigen Milieu	103
D. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers	105
E. Untersuchung der farbigen Produkte aus Xylose Bräunungsreaktionen	107
1. Isolierung von 2-Isopropyliden-4-hydroxy-5- methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (<u>20</u>)	107
2. Synthese von 2-Furfuryliden-4-hydroxy-5- methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (<u>11</u>)	108
3. Synthese von 2,3-Dihydro-2-furfuryl-4- hydroxy-5-methyl-furan-3-on (<u>25</u>)	109
4. Untersuchung der farbigen Xylose Bräunungs- produkte mit Hilfe der UV-Spektroskopie	109
F. Bräunungsreaktionen von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3- dihydro-furan-3-on (<u>9</u>)	110
G. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in neutralem Milieu	111
H. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers	113
I. Methylierung von Fructose/Methylamin Bräunungs- gemischen	115
K. Untersuchungen zur Bildung des Fleischaromas	117

Theoretischer Teil

Bei der Zubereitung und Lagerung von Lebensmitteln treten häufig Bräunungsreaktionen auf. Kenntnisse über diese Reaktionen sind für die Lebensmitteltechnologie von besonderem Interesse, da sie Aroma, Geschmack, Farbe und Haltbarkeit des Lebensmittels erwünscht und unerwünscht beeinflussen. Es werden dabei geruchsintensive, niedermolekulare Verbindungen sowie höhermolekulare, schwerflüchtige dunkle Produkte, die sog. Melanoidine gebildet.

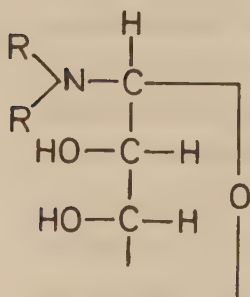
Die Strukturaufklärung der Melanoidine erwies sich als schwierig. Eine Übersicht geben G.P.Ellis¹⁾ und T.M.Reynolds²⁾. Die UV-³⁾ und IR-Spektren²⁾ der aus Bräunungsreaktionen von Glucose oder Xylose mit Glycin isolierten Pigmente zeigen, daß es sich um Makromoleküle mit Carbonyl- und Hydroxylgruppen sowie Doppelbindungen handelt. K.Heyns und E.Hauser⁴⁾ untersuchten die thermische Fragmentierung ¹⁴C-markierter Sorbosebräunungspolymerisate. Mit Hilfe der Pyrolysegaschromatographie identifizierten sie u.a. 2-Hydroxyacetylfuran (1) und schlossen daraus, daß das Makromolekül durch Polykondensation dieser Verbindung entstanden ist.



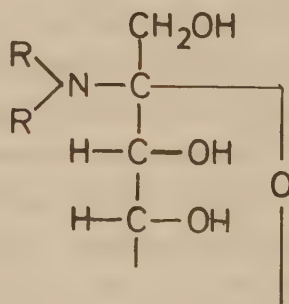
1

Die Bräunungen sind zum großen Teil durch Umsetzungen von Kohlenhydraten mit Aminosäuren bedingt. So machte L.C. Maillard⁵⁾ 1912 erstmalig die Beobachtung, daß aus Gemischen von Zuckern mit Aminosäuren bereits bei 50 bis 70°C relativ rasch braune Produkte gebildet werden.

Über die ersten Reaktionsschritte derartiger Bräunungen ist manches bekannt. Es erfolgt zuerst eine Kondensation zwischen der Aminogruppe der Aminosäure und der Carbonylfunktion des Zuckers. Die entstehenden Aldosylamine (2) und Ketosylamine (3) sind bei Aminosäuren in Form ihrer Ester zugänglich.



2



3

Aldosylamine (2) unterliegen bei der Säurekatalyse der Amadori-Umlagerung, wobei die entsprechenden 1-Desoxy-1-amino-ketosen (4) entstehen. Entsprechend verhalten sich Ketosylamine, die durch Heyns-Carson-Umlagerung⁶⁾ in 2-Desoxy-2-amino-allosen übergehen.

Solche 1-Desoxy-1-amino-ketosen wurden vor allem in hitzebehandelten Lebensmitteln gefunden, z.B. in Backwaren, Marmelasse und getrockneten Früchten. Folgereaktionen des Amadoriproduktes führen zu 3-Desoxy-1,2-glucoson (5) bzw. 3,4-Didesoxy-1,2-glucoson-3-enen (6) oder Reduktionen (7)⁷⁾.

Die Osone 5 und 6 stellen sehr reaktive Zwischenstufen bei der Bildung der niedermolekularen Aromastoffe und der höhermolekularen Melanoidine dar.

H.Kato und Mitarbeiter⁸⁾ untersuchten die Bräunungsgeschwindigkeit von Sojasosse nach Zugabe einzelner Zucker sowie nach Zugabe der betreffenden Osone. Sie stellten fest, daß die Osone eine raschere Bräunung bewirken.

Dicarbonylverbindungen scheinen somit bei der Pigmentbildung wichtige Zwischenprodukte zu sein. Sie werden auch als wirksame Verbindungen bei dem sog. Streckerabbau angesehen. Bei dieser oxydativen Desaminierung von Aminosäuren durch α -Dicarbonylverbindungen werden sehr reaktive Enamine und Aldehyde gebildet, die miteinander oder mit anderen Zuckermumwandlungsprodukten zu braunen Pigmenten kondensieren können.

Die Maillard-Reaktion wurde wegen ihrer großen Bedeutung in der Lebensmittelchemie eingehend untersucht. Man fand nämlich heraus, daß insbesondere die stickstoffhaltigen, niedermolekularen Produkte dem zubereiteten Lebensmittel typisches Aroma verleihen. Daher betrieben in letzter Zeit verschiedene Forscherkreise eine intensive Untersuchung derartiger Aromakomplexe. Vor allem brachte die Kombination von Gas-

chromatographie und Massenspektrometrie entscheidende Fortschritte. Mit diesen physikalisch chemischen Methoden lassen sich sehr kleine Mengen von Substanzgemischen analysieren. So identifizierten F.Ledl und Th.Severin⁹⁾ nach der Umsetzung von Xylose mit Cystein auf diese Weise ca. 90 flüchtige Substanzen. Eine japanische Forschergruppe¹⁰⁾ erhitzte ein Gemisch von Glucose und Alanin und fand durch Anwendung der GC-MS-Methode Pyrrole, Pyridine, Pyrazine und Furanderivate.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe des GC-MS-Systems weitere flüchtige Produkte zu erfassen, die bei der Umsetzung von Pentosen und Hexosen mit Methylammoniumacetat gebildet werden.

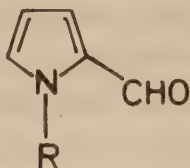
Bekanntlich wird im Eiweiß in erster Linie die ϵ -Aminogruppe der Lysin-Seitenkette von reduzierenden Zuckern angegriffen¹¹⁾.

Man kann annehmen, daß primäre Amine mit nicht stark verzweigter aliphatischer Seitenkette gleichartig reagieren. Somit sollten auch Umsetzungen von Zuckern mit Methylamin in annähernd neutraler Lösung weitgehend nach dem gleichen Prinzip verlaufen wie Bräunungsreaktionen in Lebensmitteln. Die Verwendung von Methylamin als Modellsubstanz hat den Vorteil, daß die Reaktionsprodukte leichter isolierbar und auch mit geringerem Aufwand trennbar sind.

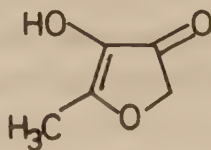
Vergleicht man die Reaktivität der Zucker bei der Maillard-Reaktion, so tritt bei Einsatz von Pentosen eine wesentlich schnellere und intensivere Bräunung ein als bei Hexosen und Disacchariden. Da aus früheren Versuchen zu ersehen war,

daß sich die verschiedenen natürlich vorkommenden Pentosen wie D-Ribose, D-Xylose und L-Arabinose bei Umsetzungen mit Aminosäuren im wesentlichen nicht unterscheiden, wurde zunächst Xylose bei den Modellreaktionen eingesetzt. Außerdem konnte nach der Bräunungsreaktion eines C5-Zuckers ein Reaktionsgemisch erwartet werden, das aus einfacher gebauten Verbindungen bestand als das eines C6-Zuckers.

Die säurekatalysierte Umwandlung von Pentosen zu Furfurol ist bekannt. Völlig andere Ergebnisse erhält man, wenn man in Gegenwart eines Amins im schwach alkalischen Medium umsetzt. So fanden H.Kato und M.Fujimaki¹²⁾ N-substituierte 2-Formylpyrrole (8) als sie verschiedene primäre Amine mit Xylose in wäßriger Lösung reagieren liessen. Th.Severin und W. Seilmeier¹³⁾ isolierten aus erhitzten wäßrigen Lösungen von L-Arabinose und Tryptaminacetat 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9).



8



9

Wie bereits erwähnt, werden bei der Maillard-Reaktion flüchtige Produkte gebildet, die für das Aroma und den Geschmack verantwortlich sind. Vorversuche zeigten, daß die Bräunung

im wesentlichen von den Reaktionsbedingungen wie Wassergehalt, Temperatur, pH und Reaktionsdauer abhängt. Der Wassergehalt spielt dabei eine wichtige Rolle.

A. Karamellisierung von Xylose mit Methylammoniumacetat

Ich untersuchte zunächst die thermische Zersetzung von Xylose mit Methylammoniumacetat in sehr konzentrierter wäßriger Lösung.

Xylose und Methylammoniumacetat wurden im Molverhältnis 3:1 dreißig Minuten auf 100°C erhitzt. Die erkaltete braune, amorphe Masse löste ich in Wasser und extrahierte die Lösung 12 Stunden im Perforator mit Methylenchlorid. Anschließend wurde der getrocknete organische Extrakt in einer Retorte bei 1 bis 0,1 Torr und langsam ansteigender Temperatur bis 170°C destilliert.

Dabei schieden sich bei etwa 90°C farblose Kristalle in der Vorlage ab, die als 2 identifiziert werden konnten. Von 90 bis 170°C ging ein hellgelbes Öl über. Dieses (B_1) sowie die leichter flüchtigen Reaktionsprodukte in der auf -78°C gekühlten Falle (C_1) wurden gaschromatographisch aufgetrennt. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die Gaschromatogramme der Fraktionen B_1 und C_1 . In Tabelle A sind die identifizierten Verbindungen abgebildet.

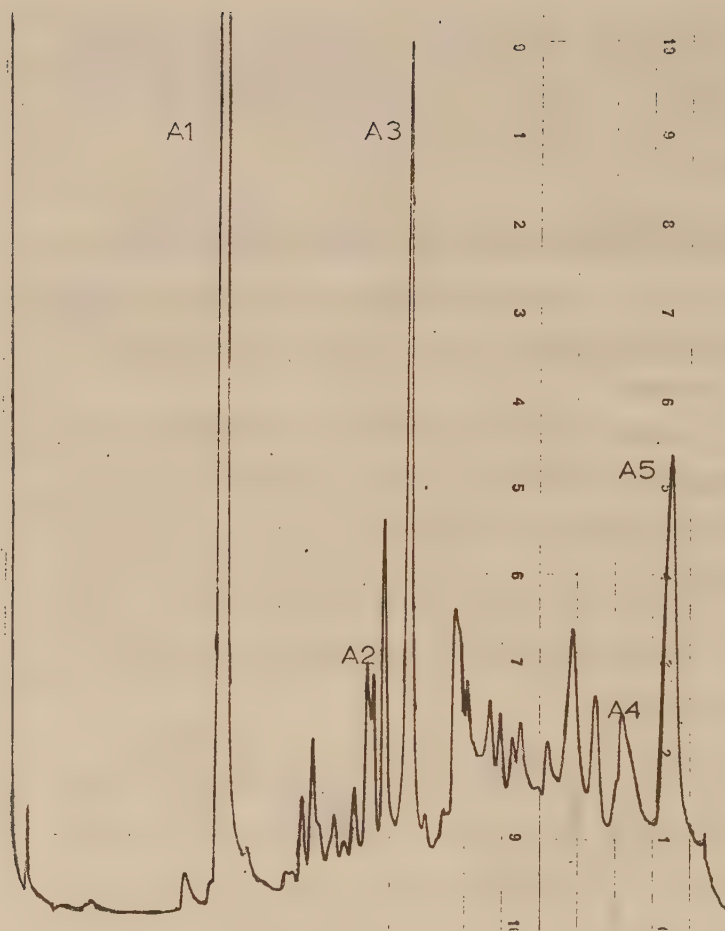
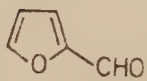


Abb.1: Fraktion B₁

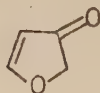
Tabelle A

A1

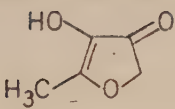
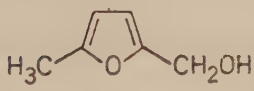
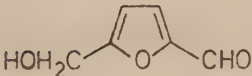
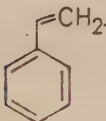


96(100), 95(88), 39(34), 40(12)

A2



84(78), 55(100)

A3		114(60), 71(12), 55(30), 44(15), 43(100)
A4		112(84), 97(35), 95(100), 69(28), 43(63)
A5		126(59), 97(68), 69(30), 53(20), 52(11), 51(18), 41(100), 39(60),
A6		104(100), 103(45), 78(32), 51(12), 77(17)

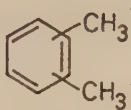
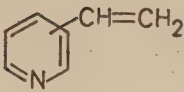
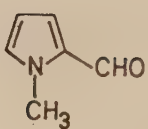
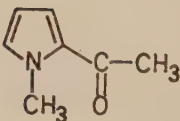
Es zeigte sich, daß auch bei diesem Verfahren die von Th. Severin und W. Seilmeier¹³⁾ isolierte Verbindung 9 in grös-
serer Menge anfällt. Daneben entstehen die flüchtigen Ver-
bindungen Furfurol, 2,3-Dihydro-furan-3-on, 2-Hydroxymethyl-
furfurol.

Ich führte den gleichen Versuch bei 150°C und kürzerer Reak-
tionszeit durch. Es wurden noch weitere Produkte gebildet,
die in Tabelle B aufgeführt sind.

Wie aus den Gaschromatogrammen ersichtlich ist, identifizier-
te ich nur die Hauptsubstanzen. Weitere Versuche ergaben
nämlich, daß die Umsetzungen von Pentosen mit Methylammo-
niumacetat in verdünnter wäßriger Lösung viel ergiebiger

waren, so daß hier auf eine eingehende Analyse verzichtet werden konnte.

Tabelle B

B1		106(63), 105(30), 91(100), 51(20), 39(45)
B2		105(100), 104(57), 51(43), 52(37), 78(31)
B3		109(100), 108(85), 60(33), 53(45), 39(36)
B4		123(75), 108(100), 80(30), 53(41), 39(45)

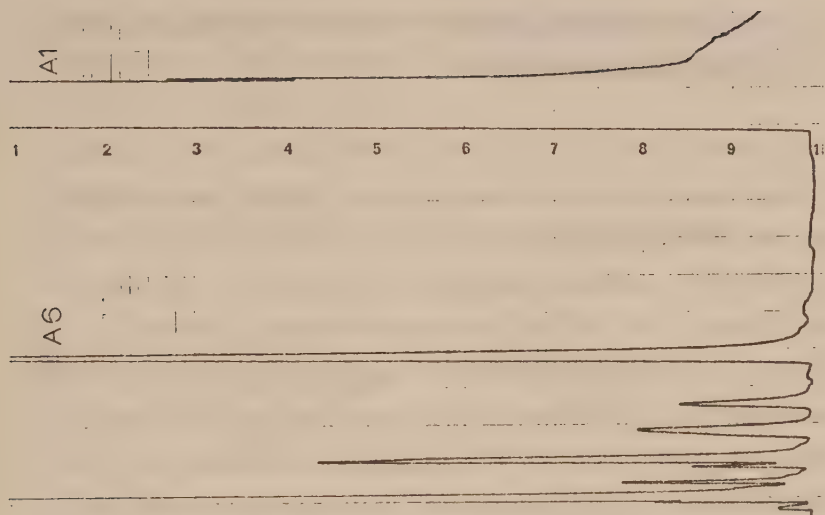


Abb.2 : Fraktion C₁

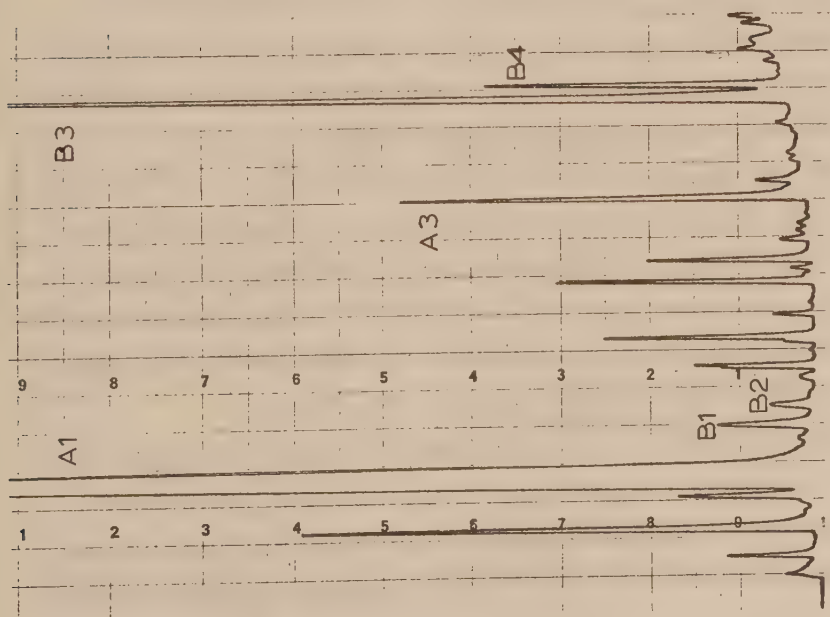


Abb.3: Fraktion B₂

B. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in schwach basischem wäßrigen Milieu

Als nächstes setzte ich Xylose mit Methylamin und Eisessig in verdünnter wäßriger Lösung um. Wie bereits erwähnt, wurden die Reaktionsbedingungen, die zu einer optimalen Bräunung führen, eingehend untersucht. So wird z.B. bei einem Wassergehalt von 30% ein Maximum an Bräunung erreicht.

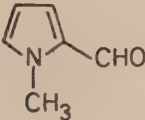
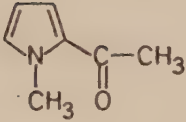
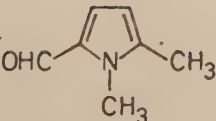
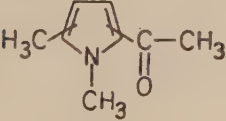
Xylose und Methylammoniumacetat wurden im Molverhältnis von annähernd 3:1 in wäßriger Lösung zwei Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die schwarzbraune Lösung (pH = 8) extrahierte ich zwölf Stunden im Perforator mit Methylenchlorid. Anschließend wurde die organische Phase einer fraktionierten Vakuumdestillation (1 - 0,1 Torr) unterworfen. Dabei konnte die in der Destillationsbrücke bei etwa 90°C auskristallisierte Substanz durch Vergleich von IR- und MS-Spektren als 9 identifiziert werden.

Bei der Destillation des Reaktionsgemisches bis 160°C sammelte ich eine schwerer flüchtige (B_3) und zwei verschiedenen leicht flüchtige Fraktionen (C_3, D_3). Die Ausbeuten waren sehr gering, so daß hier keine weitere Vortrennung des Reaktionsgemisches erfolgen konnte. Die Fraktionen wurden somit mit Hilfe des Gaschromatographen aufgetrennt.

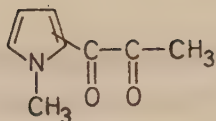
Die Abbildungen 4,5 und 6 zeigen die Gaschromatogramme der Fraktionen B_3 , C_3 und D_3 . Tabelle C enthält die identifizierten Verbindungen. Für die angegebenen Substanzen konnten in erster Linie mit Hilfe der Massenspektren Struktur-

vorschläge gemacht werden. Bei schon bekannten Verbindungen wurden die in der Literatur angegebenen Massenspektren zum Vergleich herangezogen.

Tabelle C

C1	<chem>CH3COOH</chem>	60(65), 45(93), 43(100)
B3		siehe Tabelle B
B4		siehe Tabelle B
C2		nicht rein
C3	<chem>CH3-C(=O)-CH2OH</chem>	74(72), 43(100)
A2		siehe Tabelle A
C4		123(82), 122(100), 94(37), 67(12), 53(9)
C5		137(70), 122(100), 94(37), 67(12), 53(9)

C6



151(60), 136(70), 108(100),
94(30), 80(60), 53(70)

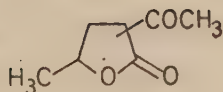
C7

115(12), 73(52), 72(51),
44(100)

C8

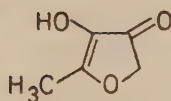
nicht rein

C9



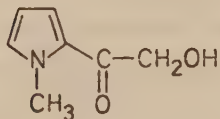
142(47), 127(35), 99(24),
71(35), 57(85), 43(100)

A3



siehe Tabelle A

C10

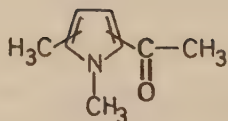


139(35), 122(26), 108(100),
80(31), 53(62), 39(51)

C11

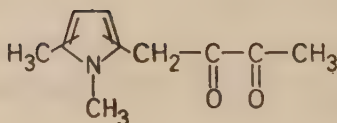
127(100), 99(21), 98(51),
84(16), 70(10), 58(43), 57
(12), 56(11), 55(10), 42(61)

C12



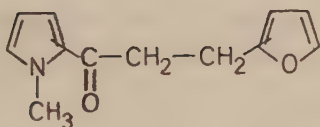
137(68), 122(100), 94(21),
67(15), 53(17)

C13



179(42), 178(39), 150(28),
136(39), 122(27), 108(100),
94(38), 80(38), 53(47),
39(50)

C14



203(50), 108(87), 94(30),
81(100), 53(39), 39(42)

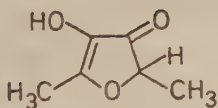
nicht rein

C15

nicht rein

C16

C17



128(50), 85(24), 75(15),
58(28), 57(31), 43(100)

nicht rein

C18

C19

nicht rein

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, werden bei der Bräunungsreaktion im schwach alkalischen Milieu viele Umwandlungsprodukte mit mehr als 5 C-Atomen gebildet. Durch Retro-Aldol-Reaktion können aus der Xylose Bruchstücke entstehen, die miteinander reagieren und unter Einbau der Aminkomponente Kondensationsprodukte bilden. Derartige Reaktionswege werden später noch eingehend beschrieben.

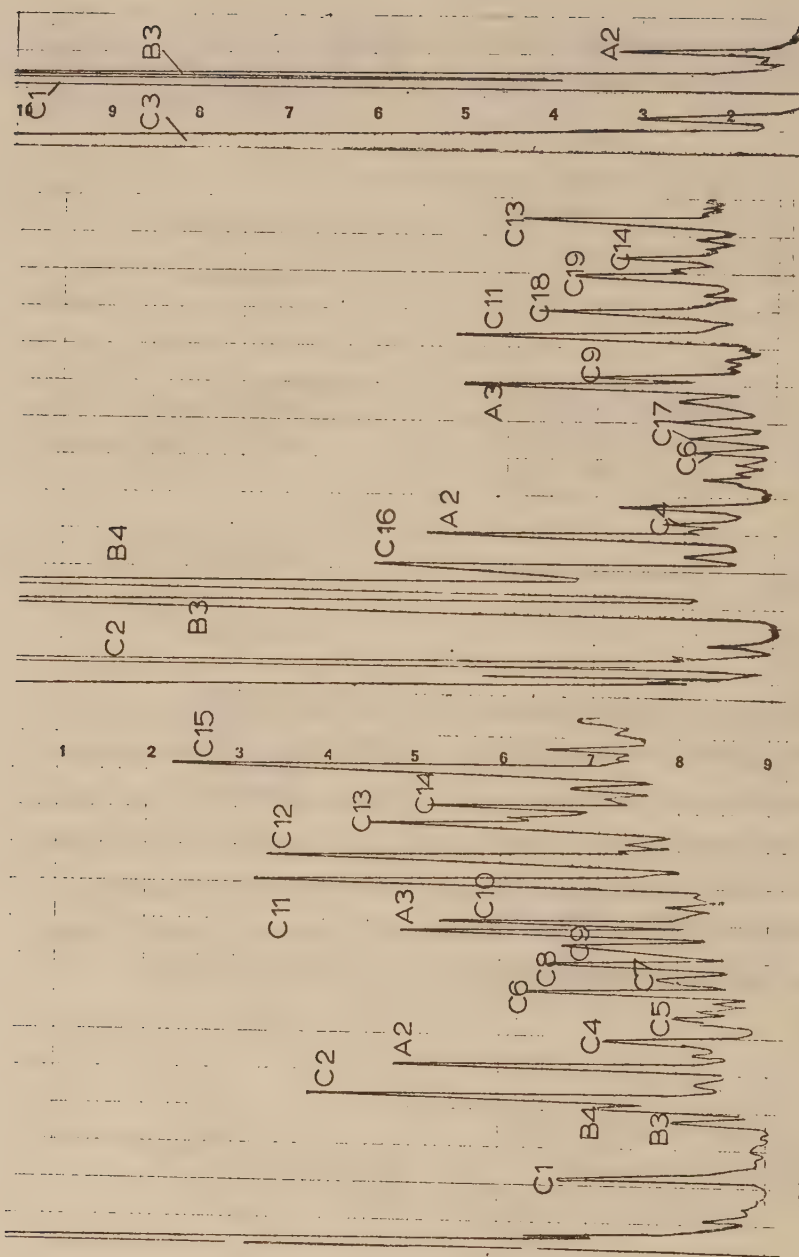


Abb. 4: Fraktion B₃

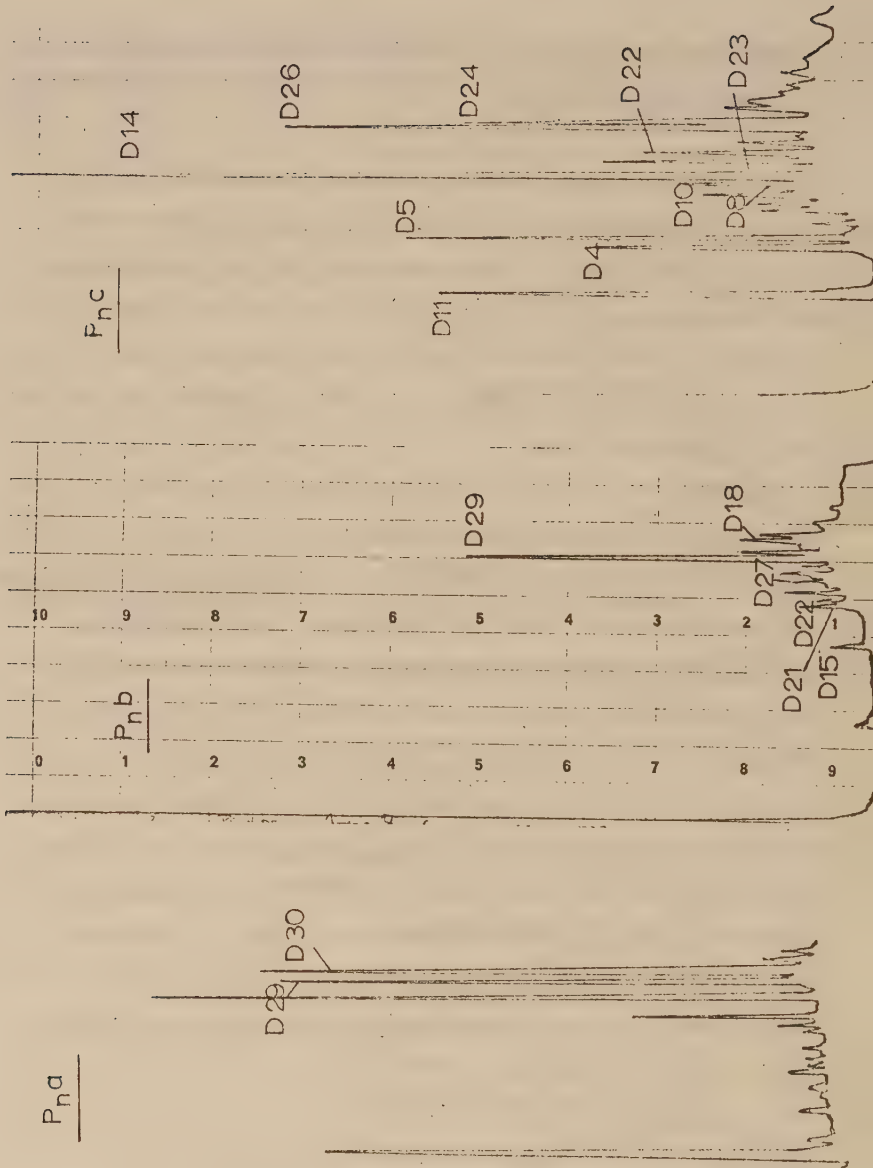
Abb. 5: Fraktion C₃

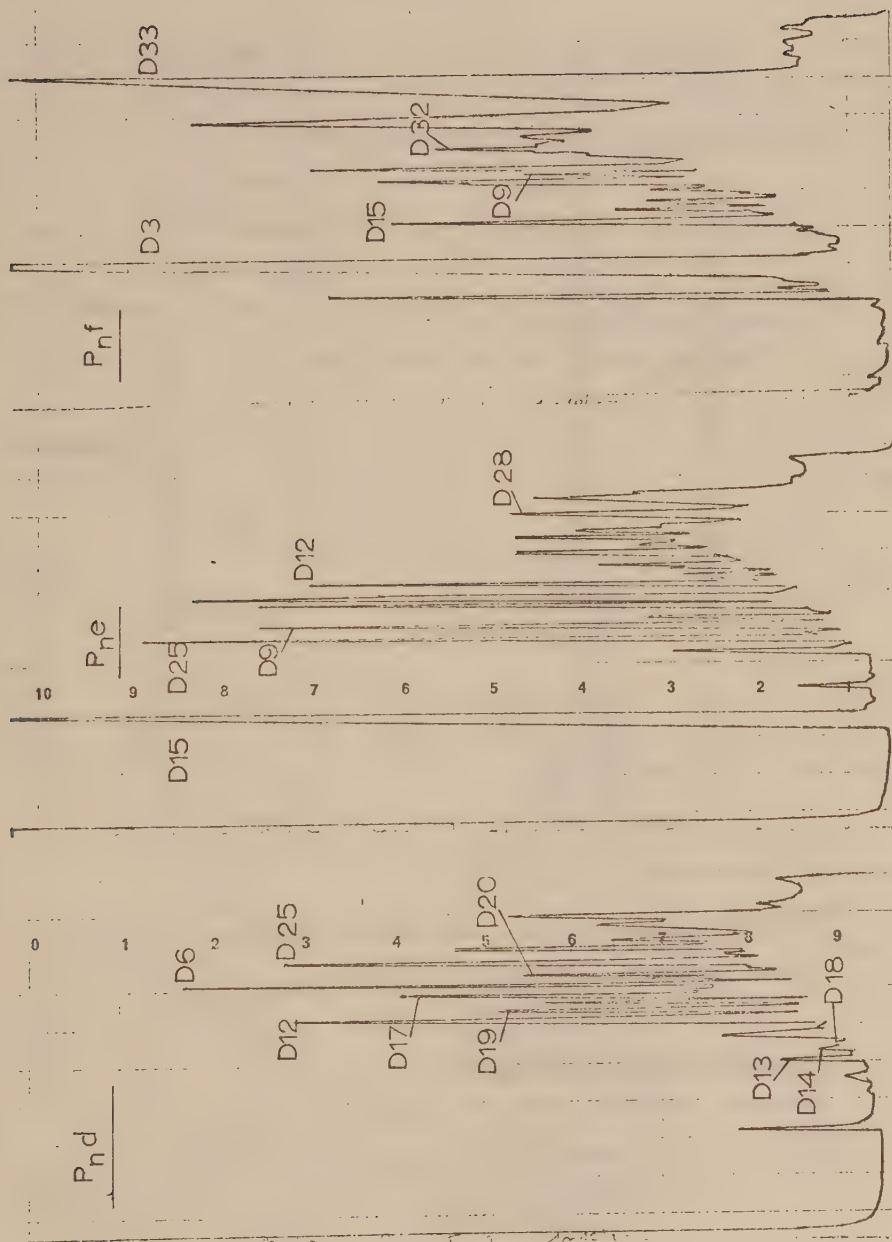
Abb. 6:
Fraktion D₃

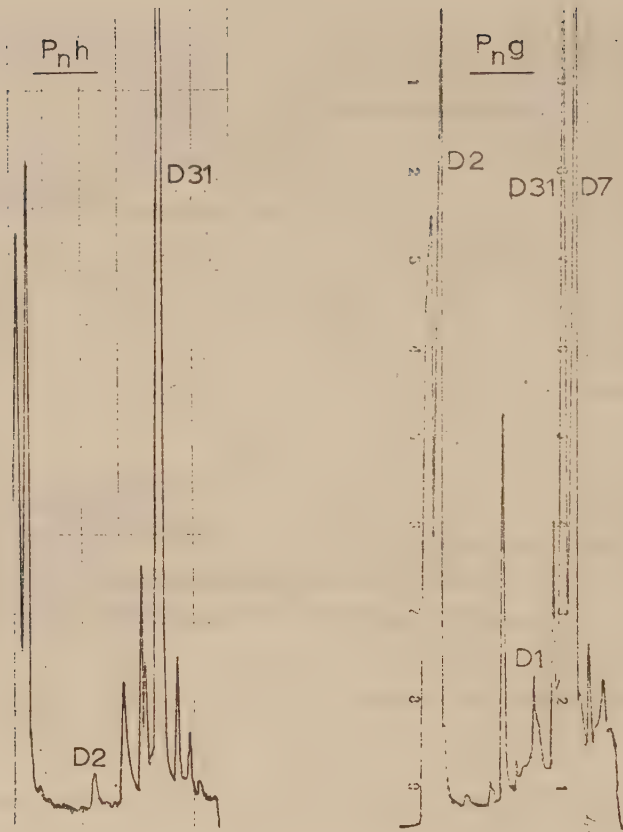
C. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in neutralem, wäßrigen Milieu

Bei den bisher beschriebenen Versuchen erwies sich als nachteilig, daß Essigsäure mit Methylenchlorid in größerer Menge extrahierbar ist. Da sie einerseits bei der Aufarbeitung des Bräunungsansatzes störend wirkt, andererseits aber auch säurekatalysierte Umwandlungsreaktionen bewirken kann, setzte ich bei gleichem Untersuchungsverfahren Xylose mit Methylamin und Weinsäure um.

Das Molverhältnis Amin, Zucker und Säure betrug etwa 1:1:0,5, der pH-Wert des Bräunungsgemisches lag bei 7. Nach Kochen und Extraktion der wäßrigen Lösung mit Methylenchlorid destillierte ich die organische Phase im Vakuum bei 1 bis 0,1 Torr und langsam ansteigender Temperatur bis 150°C. Ich vereinigte die in die Destillationsbrücke und in eine mit Eis/Kochsalz gekühlte Falle übergehenden gelben und braunen Öle (ca. 0,7 ml) und trennte sie auf präparativen Kieselgelplatten mit dem Fließmittelsystem Benzol/Äthylacetat. Durch Einteilung der Platten in acht etwa gleich breite Zonen und anschließendes Eluieren wurden die Fraktionen P_{n^a} - P_{n^h} erhalten. Jede dieser Fraktionen untersuchte ich im GC-MS-System. Nachstehend sind die entsprechenden Gaschromatogramme abgebildet.







In der Tabelle D sind die Substanzen aufgeführt, die bei diesem Versuch identifiziert werden konnten.

Zur Erläuterung der Tabelle

Spalte a: Fraktion, in der die Substanz gefunden wurde

Spalte b: Massenspektrum der Verbindung

Spalte c: Literatur

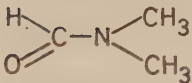
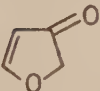
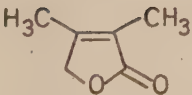
1. MS-Literatur

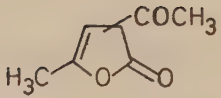
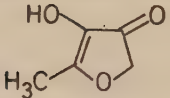
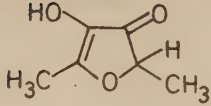
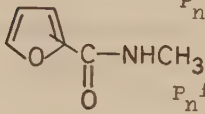
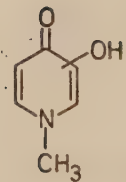
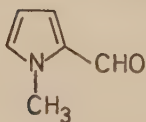
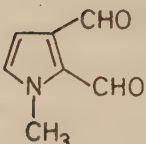
2. Das Zeichen + gibt an, daß die Verbindung schon synthetisiert worden ist

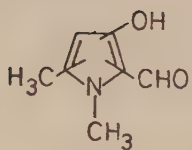
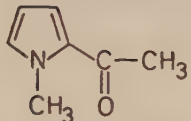
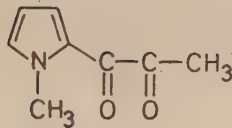
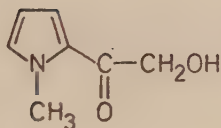
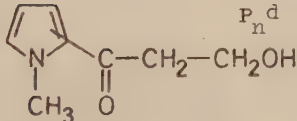
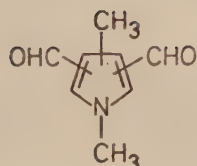
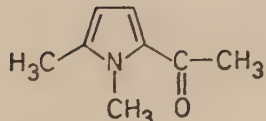
3. Aufgefunden in Lebensmitteln oder bei Modellreaktionen

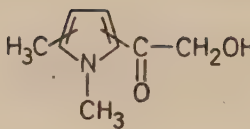
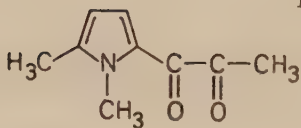
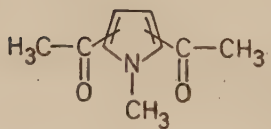
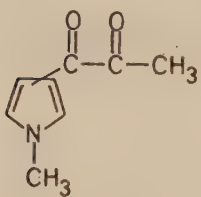
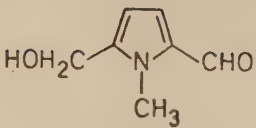
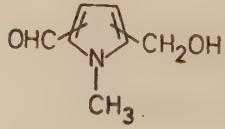
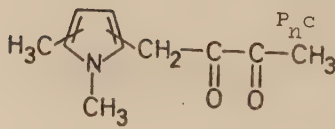
Die Identifizierung der in der Tabelle angegebenen Verbindungen erfolgte durch Interpretation der Massenspektren.

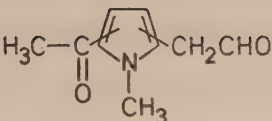
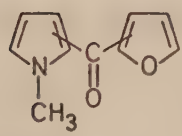
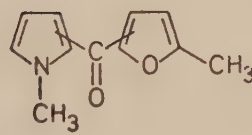
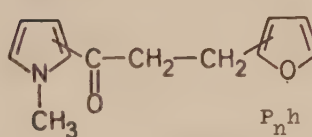
Tabelle D

		a	b	1	c 2	3
D1	<chem>CH3COOH</chem>	P_{n^g}	60(65), 45(99), 43 (100)	15	+	26, 23
D2		P_{n^h} P_{n^g}	73(86), 44(100), 42(40)	25	+	
D3		P_{n^f}	84(82), 55(100), 39(70), 27(38), 26 (27)	27	+	27
D4		P_{n^c}	112(48), 97(11), 83(67), 55(100), 39(23)	25	+	
D5		P_{n^c}	114(14), 85(100), 57(15), 43(10), 42 (19), 29(49)			

		a	b	1	c ₂	3
D6		P _n ^d	140(30), 125(55), 97(100), 69(43), 55 (78), 43(80)			
D7		P _n ^g	114(60), 71(12), 55(30), 44(15), 43 (100)	29	+	12, 19, 16, 30
D8		P _n ^c	128(50), 82(24), 57(31), 43(100)	33	+	26, 19, 33, 34
D9		P _n ^e P _n ^f	125(85), 95(100), 39(34)			
D10		P _n ^c	125(100), 97(50), 96(87), 68(79), 42 (85), 39(43)			
D11		P _n ^c	109(100), 108(85), 80(33), 53(45), 39 (36)	25	+	2, 24, 23, 12, 28, 35, 16
D12		P _n ^d P _n ^e	137(68), 109(39), 108(100), 80(24), 53(37), 39(51)	16	+	16

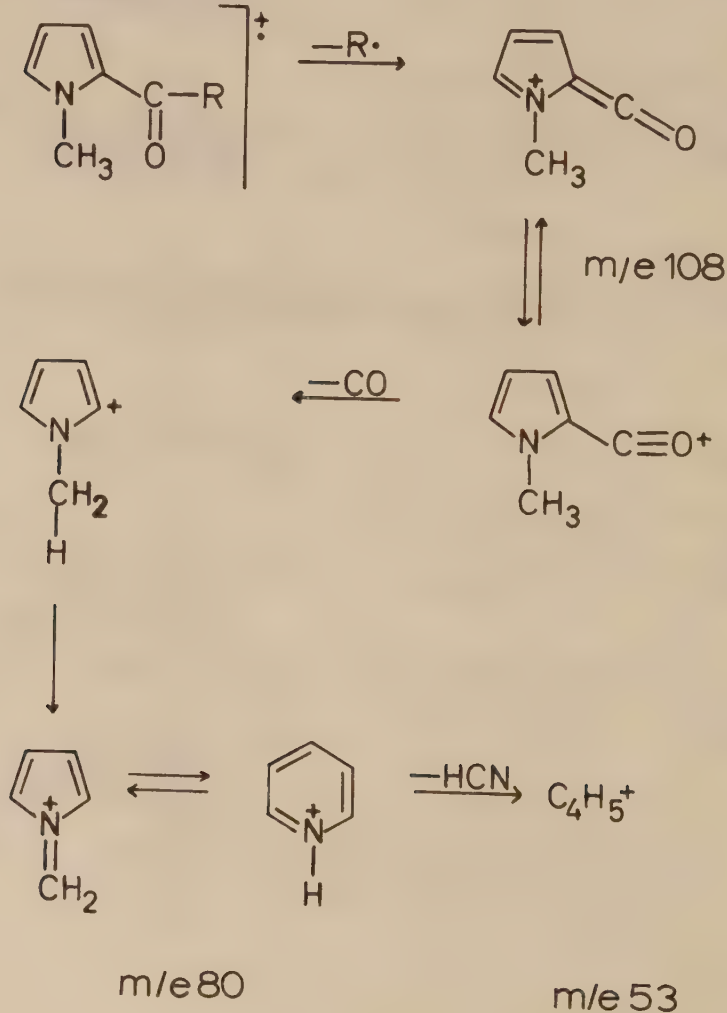
		a	b	c		
				1	2	3
D13		P_n^d	139(95), 110(100), 82(52), 69(17), 53 (45), 42(64)			
D14		P_n^d	123(87), 108(100), 80(30), 53(41), 43 (30), 39(30)	22, + 2, 28 12, 28, 18, 22		
D15		P_n^f P_n^e	151(60), 108(100), 80(60), 53(70), 39 (55)	28 + 28		
D16		P_n^c	139(32), 122(13), 108(100), 80(22), 53(31), 39(21)	22	22	
D17		P_n^d	153(30), 135(8), 122(22), 108(100), 80(26), 81(31), 53 (32), 39(26)			
D18		P_n^b P_n^d	151(99), 150(23), 136(36), 122(100), 108(46), 94(17), 80 (18), 53(15), 43(29), 42(45), 39(18),		16	
D19		P_n^d	137(70), 122(100), 94(40), 67(22), 53 (55)	28 + 28		

		a	b	c		
				1	2	3
D20		P _n ^d	153(24), 136(21), 122(100), 94(12), 53(12), 42(5), 39 (25)			
D21		P _n ^b	165(40), 122(100), 94(40), 67(32), 53 (61), 43(50)	28		28
D22		P _n ^b P _n ^c	165(81), 150(100), 108(76), 80(11), 53(20), 43(29), 42 (16), 39(13)	28 +		28, 31
D23		P _n ^c	151(60), 108(100), 80(60), 53(70), 39 (55)			
D24		P _n ^c	139(100), 124(8), 122(15), 110(26), 94(10), 82(27), 69 (18), 53(42), 42(34), 39(12)	22 +		22, 16, 23, 32
D25		P _n ^d P _n ^e	139(100), 138(60), 122(47), 11(20), 94(23), 82(16), 53 (16), 39(20)			
D26		P _n ^c	179(32), 136(25), 122(30), 108(100), 80(20), 53(24), 43 (21), 42(15), 39(22)			

		a	b	c		
				1	2	3
D27		P _n ^b	165(31), 150(33), 136(51), 122(100), 94(30), 67(48), 53 (65), 43(28), 42 (70), 39(18)			
D28		P _n ^e	175(26), 108(100), 80(10), 53(18), 42 (18), 39(21)			
D29		P _n ^b	189(16), 174(8), 108(100), 80(31), 53(47), 39(33)			
D30		P _n ^h	203(72), 108(100), 94(25), 81(99), 53 (26), 39(30)			
D31		P _n ^g P _n ^h	127(100), 99(21), 58(43), 42(61)			
D32		P _n ^f	182(40), 167(100), 139(30), 137(32), 108(12), 95(10), 68 (11), 59(40), 55(38), 43(90)			
D33		P _n ^f	183(100), 156(12), 155(11), 124(32), 112(40), 84(11), 56 (32), 44(45), 43(48), 42(54)			

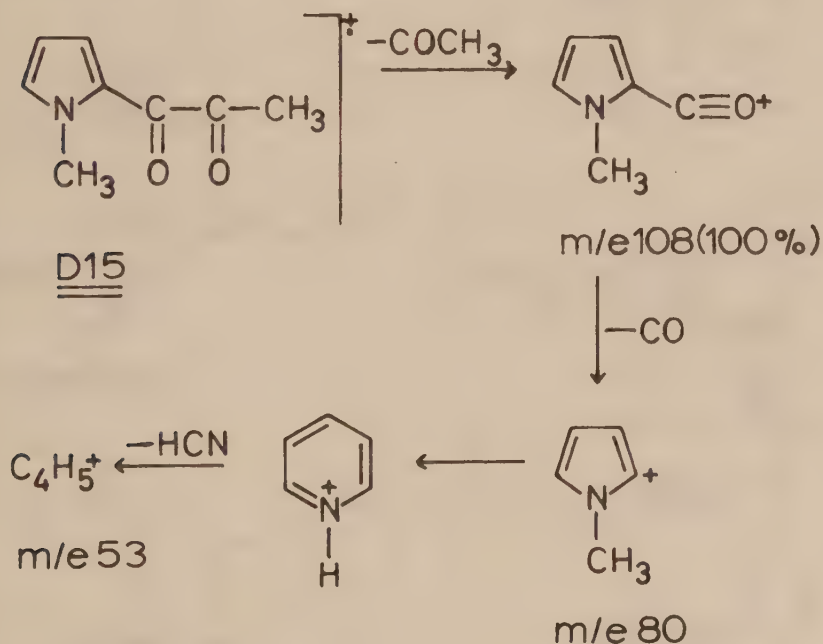
Wie aus den Spalten c1 und c2 ersichtlich ist, sind einige Substanzen bereits in der Literatur beschrieben. Ihr Nachweis bereitete somit wegen vorhandener Vergleichsspektren keine Schwierigkeiten.

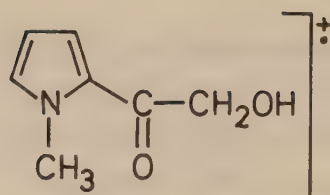
Eine größere Anzahl der in der Tabelle aufgeführten Verbindungen leitet sich von den Acylpyrrolen ab. Diese zerfallen nach folgendem Schema:



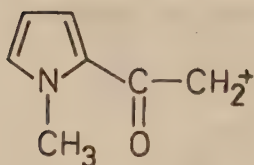
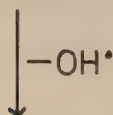
Die wichtigste, dem Basispeak zugeordnete Abspaltung ist der Verlust des Restes R unter Ausbildung des Acylium-Ions, da hier eine große Resonanzstabilisierung auftritt. Ein weiteres intensives Signal entsteht bei α -substituierten Derivaten nach der Eliminierung der CO-Gruppe. Bei β -substituierten Derivaten ist die Intensität der (M^+ -Acyl)-Peaks schwächer. Für den weiteren Zerfall sind die Bruchstücke m/e 53 und m/e 39 charakteristisch.

Die Verbindungen D15, D16 und D17 lassen sich als Beispiele anführen:

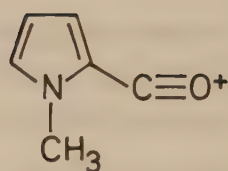
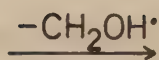




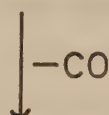
D16



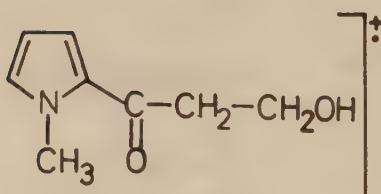
m/e 122 (13%)



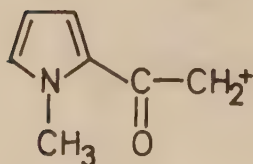
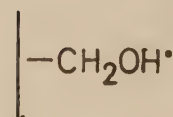
m/e 108 (100%)



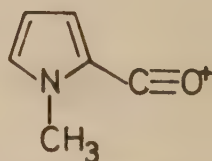
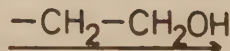
m/e 80



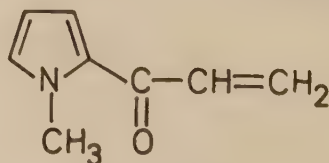
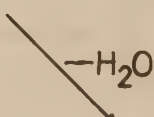
D17



m/e 122 (22%)



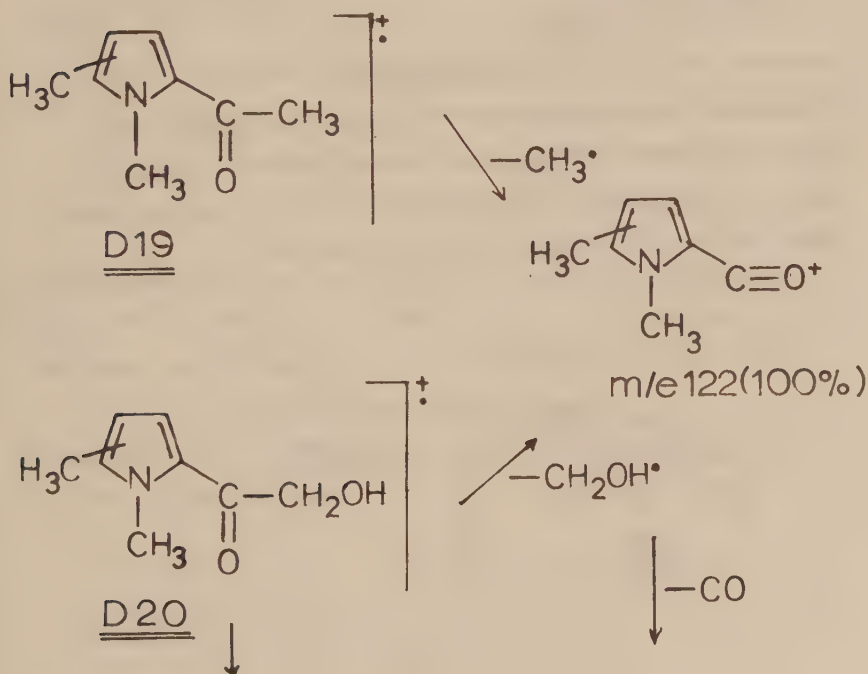
m/e 108 (100%)

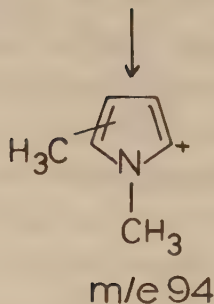
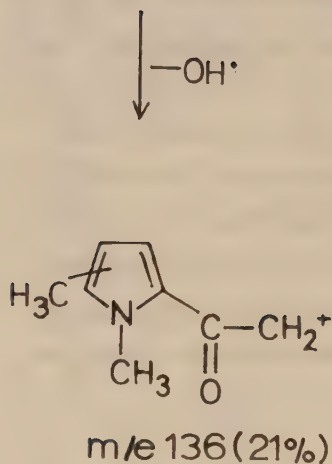


m/e 135 (8%)

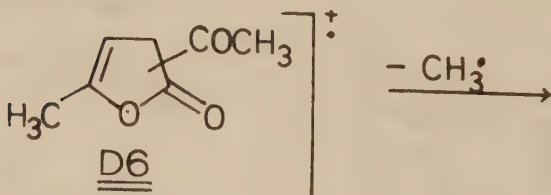
Beim Zerfall von D17 sieht man besonders deutlich, daß die zum Basispeak führende Eliminierung eine resonanzstabilisierte Struktur bevorzugt.

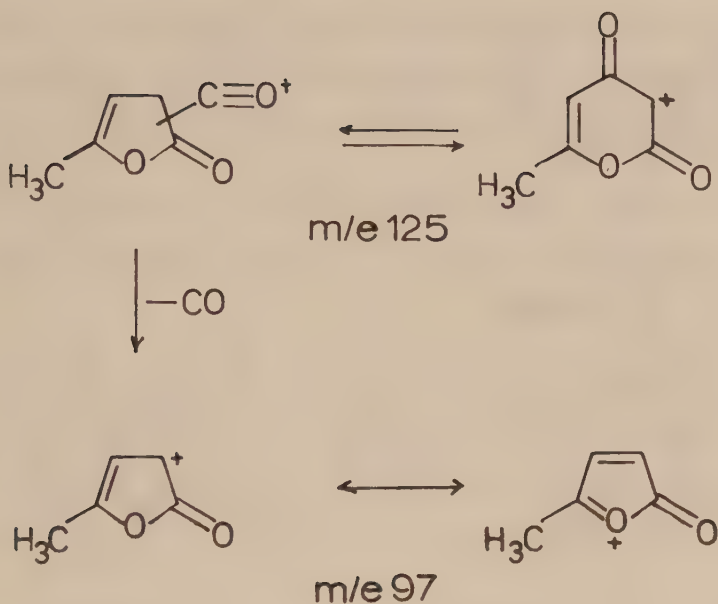
Die methylysubstituierten Acylpyrrole D19, D20 und D21 zerfallen analog. Primär findet keine Änderung an der Alkylgruppe statt. Es erfolgt wieder eine Abspaltung des Restes R an der Ketogruppe unter Ausbildung des Acylium-Ions. Der Basispeak liegt somit bei dem um 14 Masseneinheiten schwereren Bruchstück m/e 122. Ein weiteres wichtiges Signal bei m/e 94 entsteht durch den Verlust der CO-Gruppe.





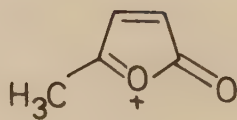
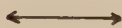
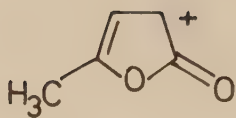
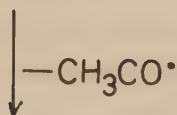
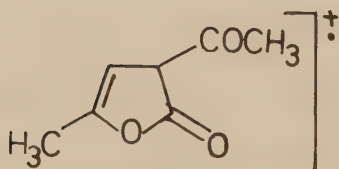
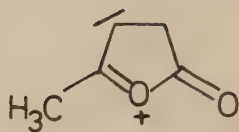
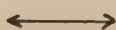
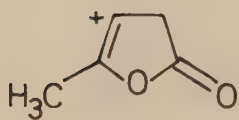
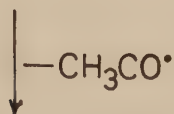
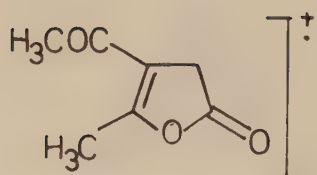
Substanz D6 zeigt die größte Intensität bei $m/e\ 97$. Dieses Bruchstück kann einem methylsubstituierten ungesättigten Lacton zugeordnet werden. Die relativ hohe (M^+-15) - und die parallel verlaufende (M^+-43) -Abspaltung, die zum Basispeak führt, entspricht einem Acetylsubstituenten.





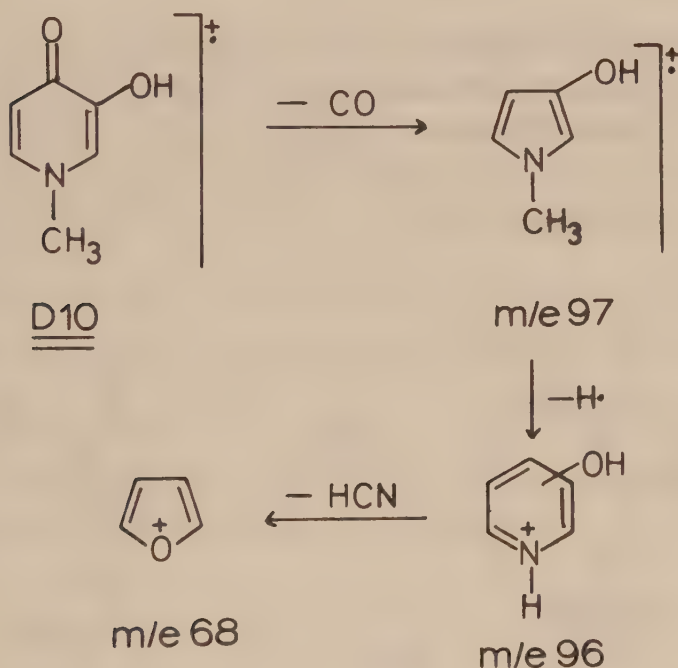
Die Stellung des Acetylsubstituenten ist aus dem Massenspektrum nicht ersichtlich. Befindet er sich in 4-Stellung, so würde nach seiner Abspaltung ein Vinylkation bzw. ein Carben entstehen, die nicht besonders stabil sind.

Bei Substitution in 3-Stellung wird eine bessere Stabilisierung des Kations erreicht.

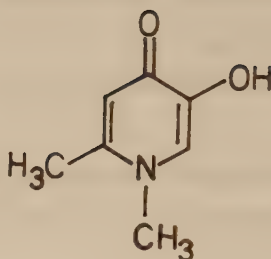
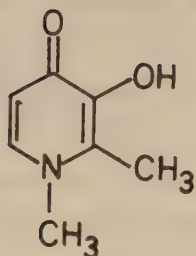


D9 ist ein Säureamid. Es hat neben dem Molekülpeak nur noch ein wichtiges Signal. Der Basispeak m/e 95 entspricht dem Furylkation, die Differenz von 125 zu 95 einer CH_3NH -Gruppierung.

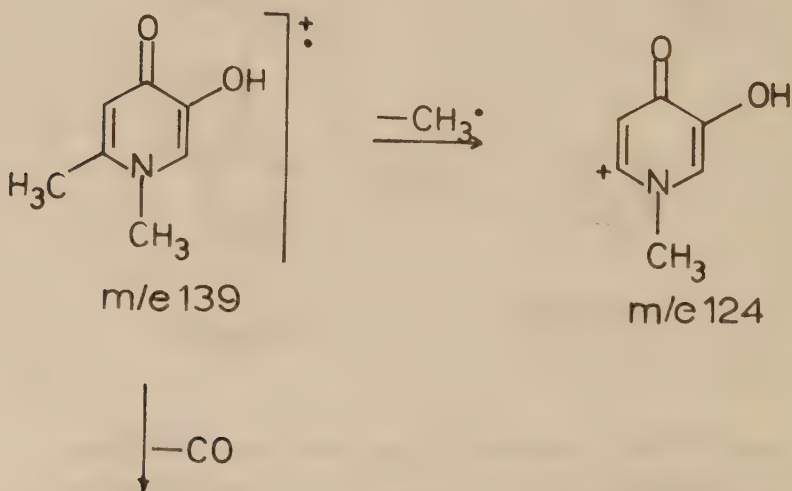
Die Fragmentierung im Massenspektrum von D10 erinnert an den Zerfall von Hydroxypyridon wie folgendes Zerfallsschema zeigt:

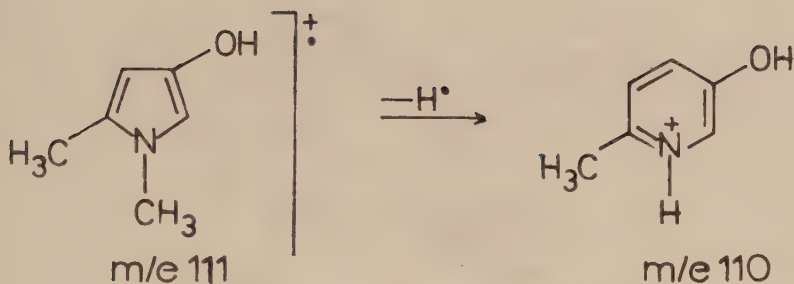


A. Loidl¹⁴⁾ und G. Manninger¹⁵⁾ erhielten aus Bräunungsge-
mischen von Maltose und Dihydroxyaceton mit Methylammonium-
acetat die isomeren Verbindungen der Struktur:



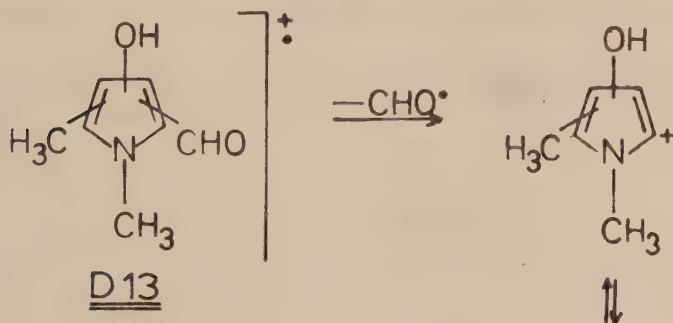
Zieht man die Massenspektren dieser Pyridone zum Vergleich heran, so zeigen sich Übereinstimmungen. Läßt man den Verlust des Methylsubstituenten unberücksichtigt, so erfolgt die Abspaltung eines CO-Moleküls und eines H-Radikals, die auch bei D10 zu finden ist.

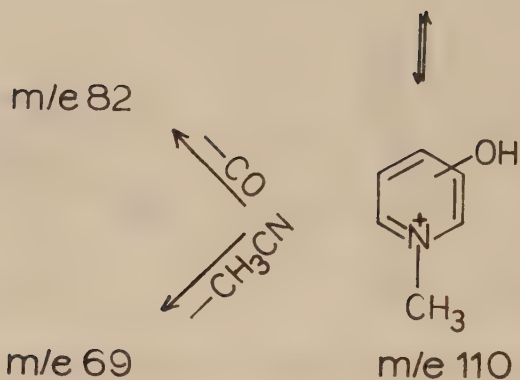




D12 und D18 wurden von U.Krönig¹⁶⁾ nach einem Perjodatabbau von Fructose/Methylammoniumacetat Bräunungsgemischen isoliert. Mit Hilfe der von ihm angegebenen Massenspektren liessen sich die Strukturen eindeutig festlegen.

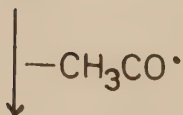
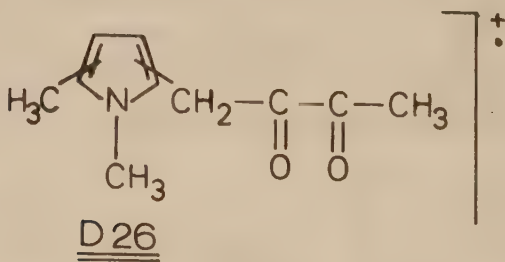
Im Massenspektrum der Substanz D13 deutet das Bruchstück m/e 110 auf ein methylsubstituiertes Hydroxypyrrol hin. Die Massendifferenz davon zum Molekülpeak bei der Masse 139 könnte durch Abspaltung einer Aldehydgruppe entstanden sein. Die Signale bei m/e 82 und m/e 69 sind durch den Verlust von CO und CH₃CN aus Bruchstück m/e 110 gebildet worden. Vergleiche mit den von Th.Wieland¹⁷⁾ und U.Krönig¹⁶⁾ isolierten Hydroxypyrollen bestätigen die vorgeschlagene Struktur.

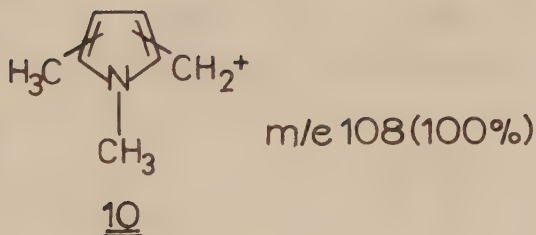
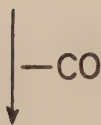
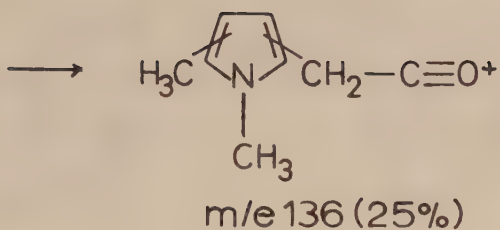




Das Massenspektrum von D23 zeigt dieselbe Zerfallsreihe wie D15. Da die Substanzen in verschiedenen Fraktionen vorkommen, liegen hier isomere Verbindungen vor.

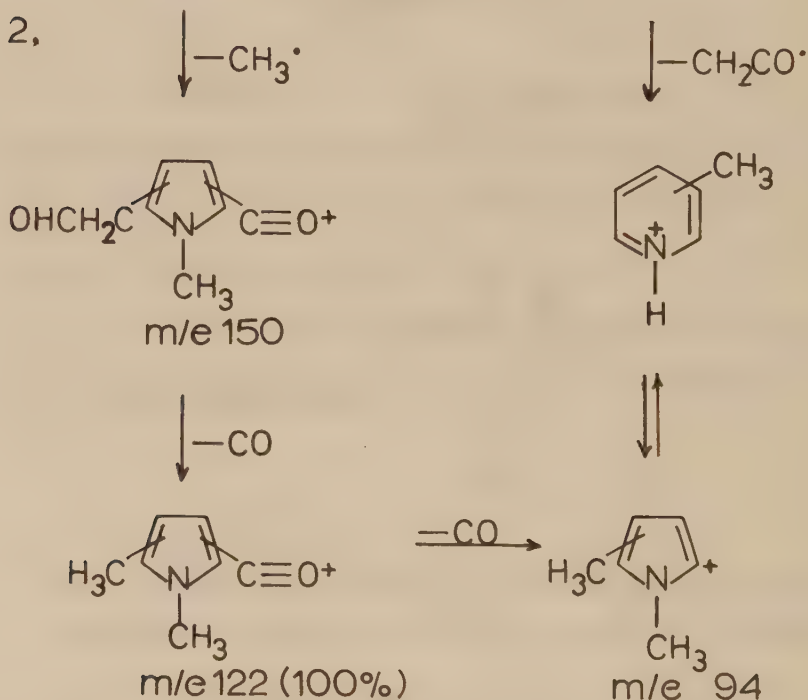
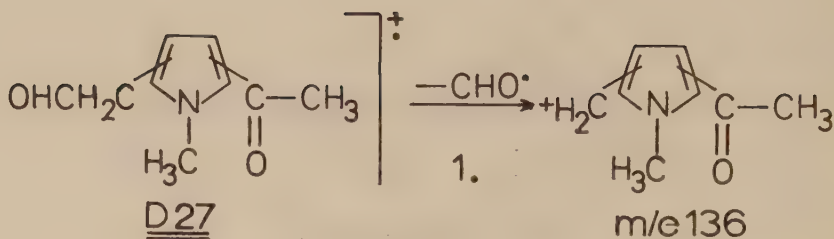
D26 leitet sich vom Grundkörper $m/e\ 108$ ab, der in diesem Falle aber nicht (wie vorher diskutiert) von einem Acylpyrrol herrührt. Ihm liegt vielmehr die im Formelschema angegebene Struktur 10 zugrunde.





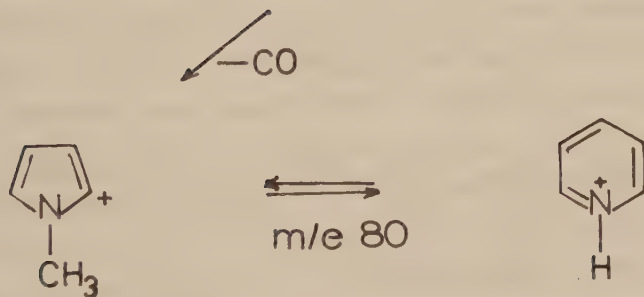
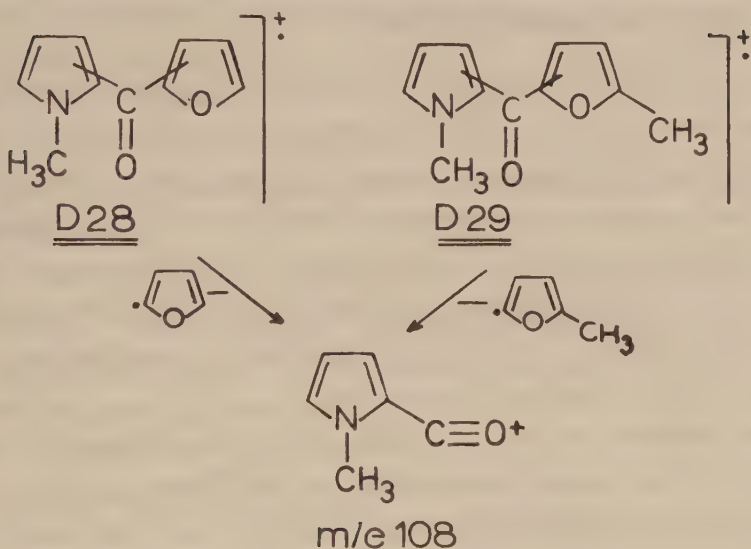
Ein ($M^+ - 15$)-Signal tritt beim Zerfall von D26 nicht in Erscheinung; es werden sofort 43 Masseneinheiten abgespalten.

Für Verbindung D27 lassen sich zwei Zerfallswege formulieren:



Die Fragmentierung zum Bruchstück m/e 122 ist bevorzugt, da die Ladung von der Carbonylfunktion übernommen werden kann. Die Massenspektren von D28 und D29 leiten sich teilweise vom Acylpyrrolrest m/e 108 ab. Die Massendifferenzen davon zu den Molekülpeaks bei den Massen 175 und 189 sind durch Abspaltung

eines Furan- bzw. Methylfuranrings entstanden.



Verbindung D30 zeigt zwei Hauptsignale bei m/e 81 und m/e 108, die sich in ihrer Intensität nur gering unterscheiden. Die beiden Bruchstücke sind einem Acylpyrrol und einem Methylfuran zuzuordnen.

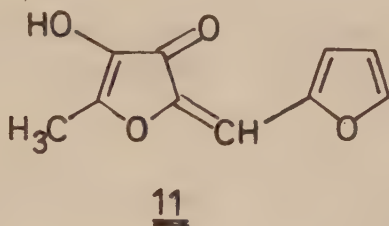
D. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers

Bei der Umsetzung von Xylose mit Methylamin bei verschiedenen pH-Werten bildet sich ein kompliziertes Reaktionsgemisch. Um dieses noch besser auftrennen zu können, setzte ich anstelle von Essigsäure oder Weinsäure einen schwach sauren Ionenaustauscher ein. Dadurch sollte einmal die Extraktion der bei der Aufarbeitung störenden Essigsäure vermieden werden. Zum anderen sollten alle basischen Substanzen gebunden werden, wodurch eine Vortrennung gegeben war.

Ich verwendete einen Ionenaustauscher auf Kunstharzbasis. Das von mir eingesetzte Amberlite IRC-84 ist schwach sauer mit COOH-Gruppen als Ankergruppen. Ich belud es mit der seiner Kapazität entsprechenden Menge an Methylamin. Das überschüssige Amin wurde solange von der Säule gewaschen bis das Eluat neutral reagierte. Dann erhitzte ich Xylose und den beladenen Ionenaustauscher in wäßriger Lösung (Zucker/Amin Molverhältnis 3:1). Nach der Filtration erfolgte die Extraktion der wäßrigen Lösung im Perforator mit Methylenchlorid. Die getrocknete, organische Phase wurde im Vakuum bei 1 bis 0,1 Torr bis 150°C destilliert. Dabei sammelte ich drei Fraktionen A₅, B₅ und C₅. Durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel wurde A₅ im Fließmittelgemisch Methylenchlorid/Aceton aufgetrennt. Die im UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) fluoreszenzlöschenden Substanzschichten bei den R_f-Werten von 0,2-0,3, 0,45-0,55 und 0,65-0,75 enthielten die Hauptkomponenten des chromatographierbaren Anteils.

Abtrennung und Elution der Schichten mit Methanol und anschließende Destillation lieferte die Fraktionen A₅a, A₅b und A₅c. Fraktion A₅a ging bei 0,1 Torr und 130°C als hellgelbes Öl über, das im GC-MS-System untersucht wurde. Aus Abbildung 7 ersieht man, daß sich dieses Öl aus einer Hauptschubstanz E1 und einigen in geringerer Menge anfallenden Nebenschubstanzen zusammensetzt.

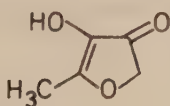
Die Zonen A₅b und A₅c enthielten die von W.Seilmeier¹³⁾ und U.Krönig¹⁸⁾ identifizierten Verbindungen 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9) und 2-Furfuryliden-4-hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (11).



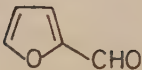
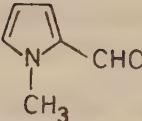
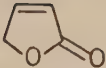
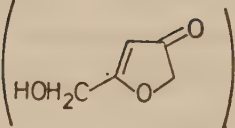
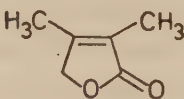
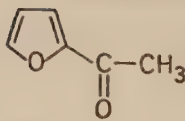
Die leichter flüchtigen Fraktionen B₅ und C₅ trennte ich jeweils mit Hilfe des Gaschromatographen auf. Die Abbildungen 8 und 9 zeigen die Gaschromatogramme, Tabelle E enthält die identifizierten Verbindungen.

Tabelle E

E1



114(60), 71(12), 55(30), 44(15),
43(100)

E2		127(100), 99(21), 98(51), 84(16), 43(100)
E3		96(100), 95(88), 39(34), 40(12)
E4		109(100), 108(85), 80(33), 53(45), 39(36)
E5		84(87), 55(100), 39(24), 27(38), 26(27)
E6		114(63), 97(21), 83(100), 55(82), versuchsweise
E7		112(48), 83(67), 55(100), 39(32),
E8	$\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{OH}$	74(18), 43(100)
E9	CH_3COOH	60(65), 45(93), 43(100)
E10		110(45), 95(100), 74(52), 43(45), 39(21)

Hauptprodukt ist wie bei allen bisher untersuchten Xylose Bräunungsgemischen Substanz 9 (E1). Bei E6 konnte nur versuchsweise eine Struktur vorgeschlagen werden, da Vergleichssubstanzen fehlten.

Dieses Verfahren erwies sich als nicht geeignet. Offenbar absorbiert der Ionenaustauscher zu viele Substanzen, so daß eine gute Vorfraktionierung des Produktgemisches nicht möglich ist.

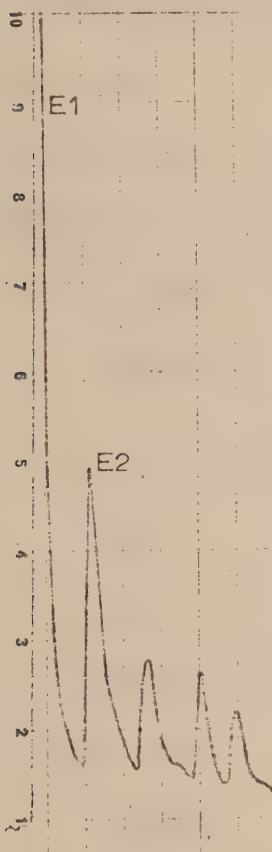


Abb.7: Fraktion A_{5a}

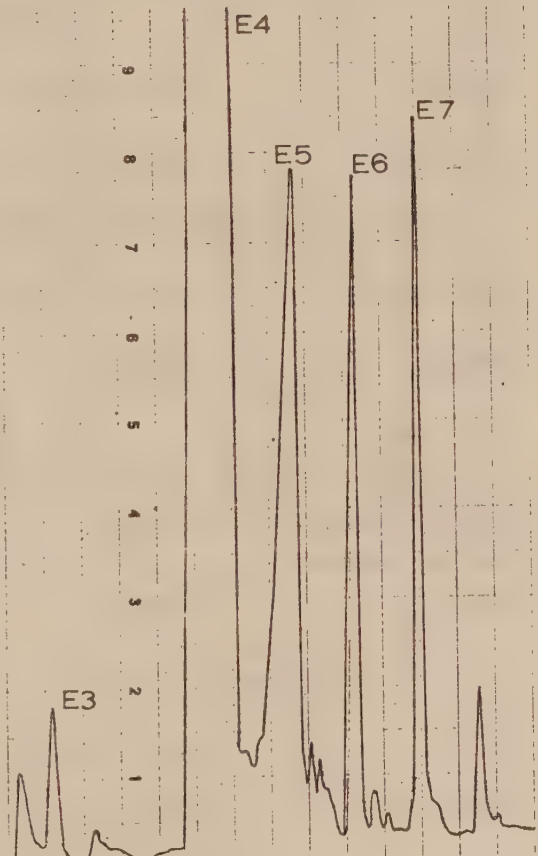


Abb.8: Fraktion B₅

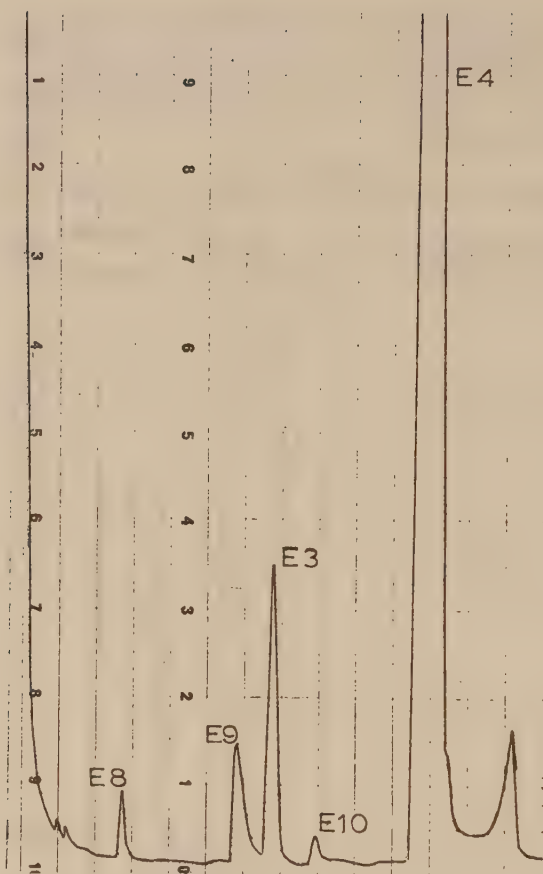
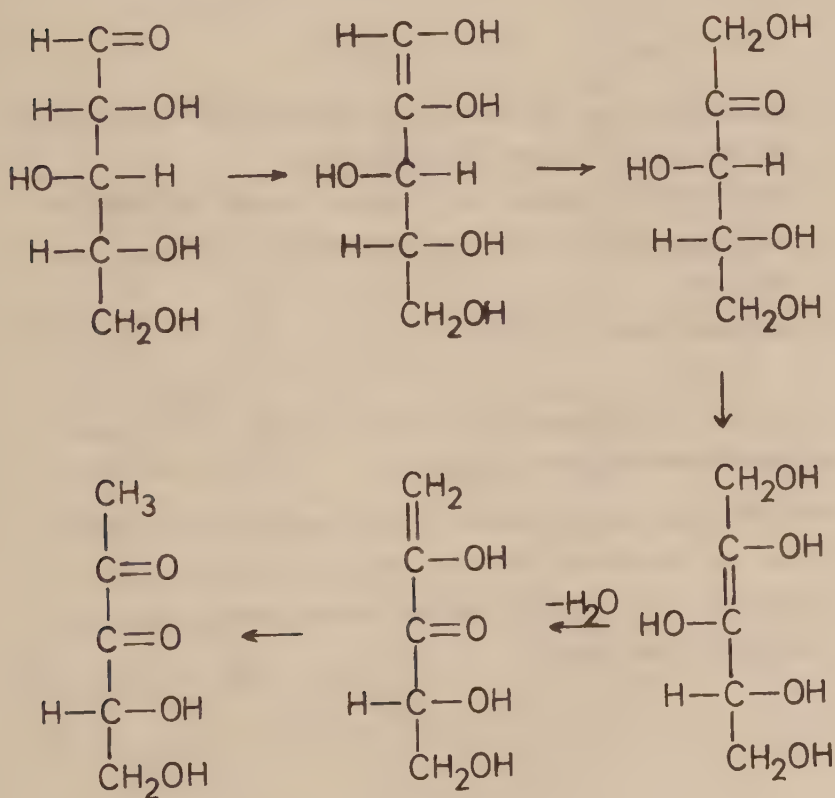


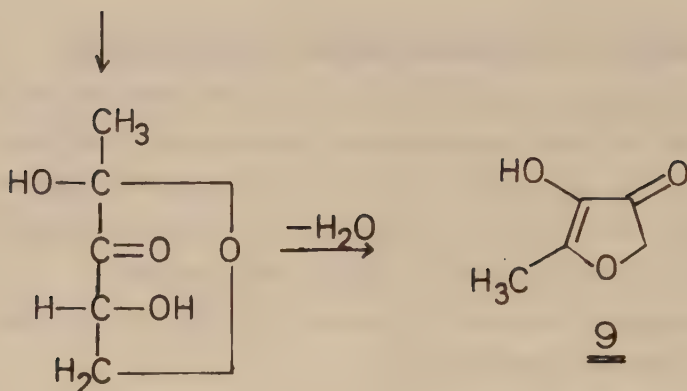
Abb.9: Fraktion C₅

Reaktionswege zur Bildung flüchtiger Bräunungsprodukte

Bei den eingehenden Analysen der Xylose Bräunungsgemische mit Hilfe des GC-MS-Systems wurden hauptsächlich niedermolekulare flüchtige Verbindungen mit Furan- und Pyrrolgerüst gefunden. Für die Bildung dieser substituierten Heterocyclen aus Xylose gibt es unterschiedliche Reaktionswege.

1. Wasserabspaltung aus der Pentose, wie z.B. bei der Bildung des Hauptproduktes 9.

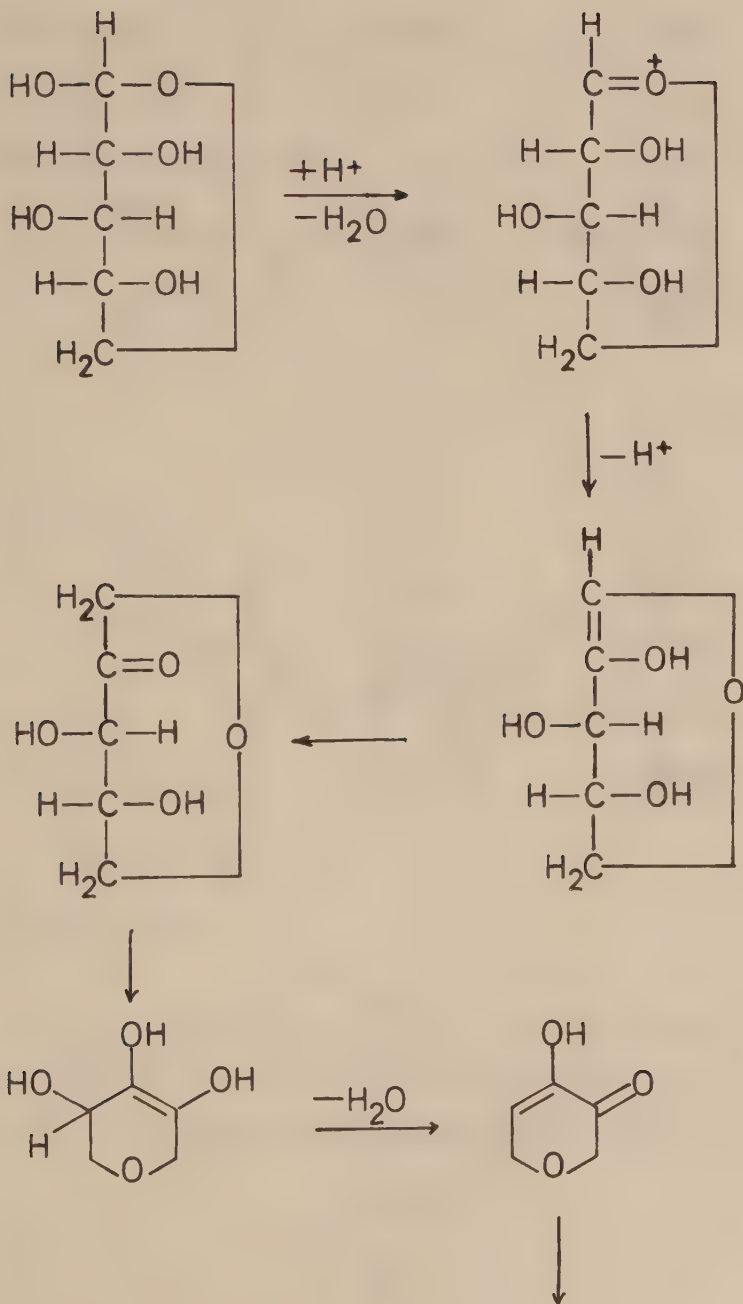


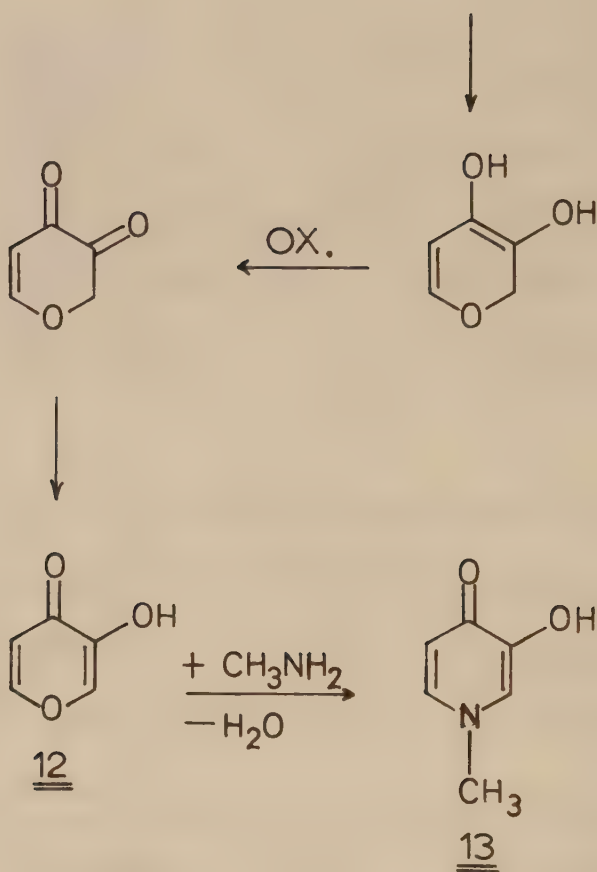


2. Wasserabspaltung und Einbau der Aminkomponente (z.B. die Bildung von 2-Formyl-1-methyl-pyrrol).
3. Zerfall des C5-Zuckers in kleinere reaktive Bruchstücke und Neukondensation zu höher substituierten Furanen und Pyrrolen.
4. Redoxreaktionen

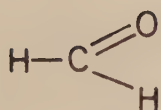
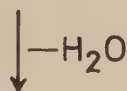
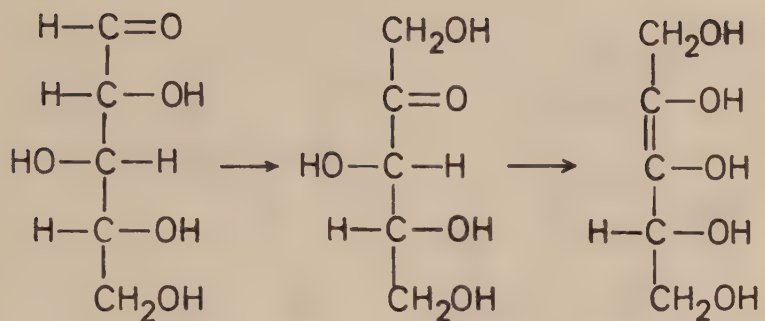
Für einige Verbindungen der Tabelle D werden im Folgenden mögliche Reaktionswege aufgezeigt.

Das Hydroxypyridon 13 könnte aus dem Hydroxypyron 12 unter Einbau von Methylamin gebildet worden sein. 12 entsteht aus Xylose durch Wasserabspaltung und anschließender Oxidation des Endiols zum Diketon.

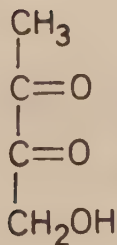
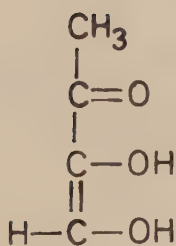
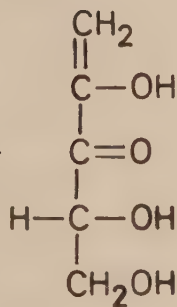
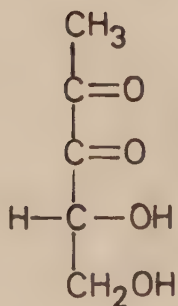


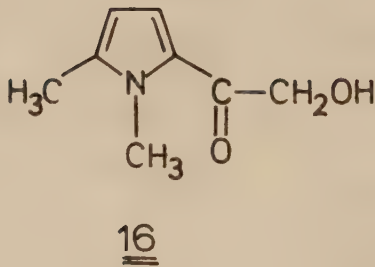
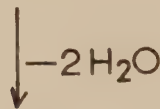
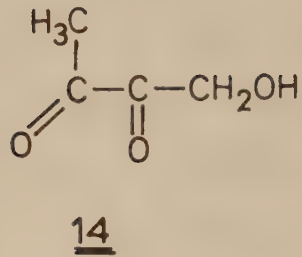
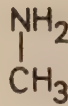
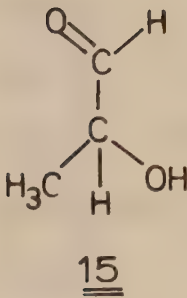


Das 2,3-Diketon 14 könnte aus der Xylose durch Abspaltung von Wasser und Formaldehyd gebildet werden. Mit dem Aldehyd 15 und Methylamin erfolgt Ringschluß zum Pyrrol 16.

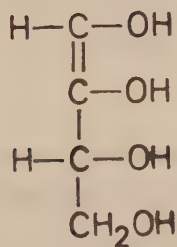
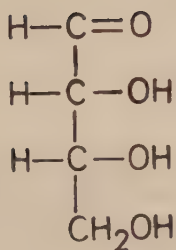
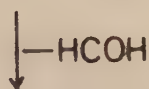
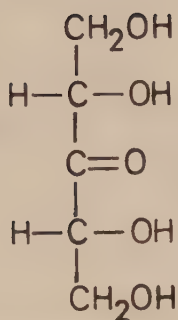
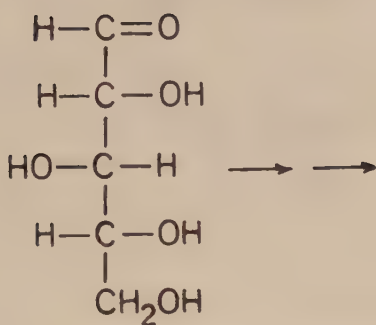


+

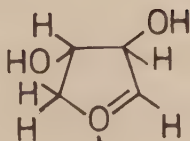
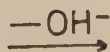
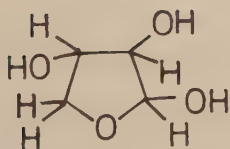


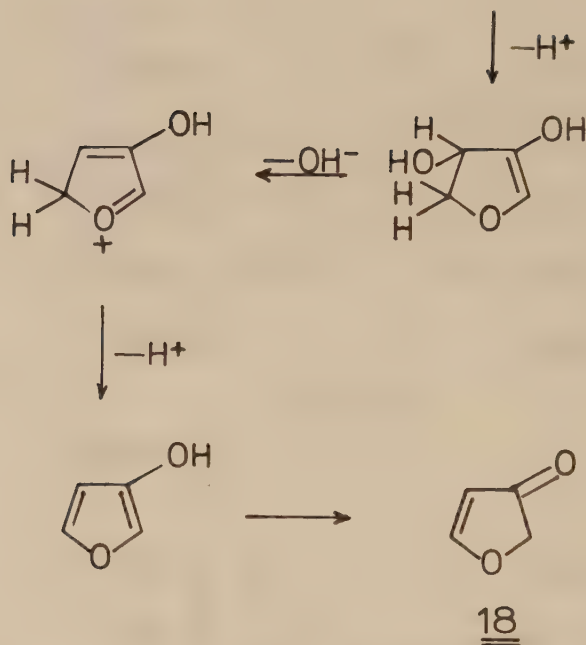


Da 2,3-Dihydro-furan-3-on 18 könnte aus Xylose durch Eliminierung von Formaldehyd entstehen. Aus dem C4-Zuckerbruchstück 17 erfolgt Cyclisierung vom C1- zum C4-Atom.



17

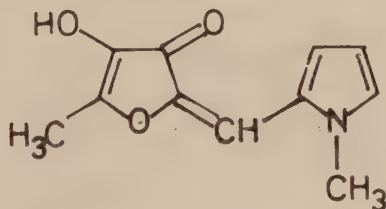




Die aufgeführten Reaktionswege zeigen nur einige Möglichkeiten, die zu den in der Tabelle angegebenen Verbindungen führen. Sie sind keinesfalls als gesicherte Mechanismen aufzufassen.

E. Untersuchung der farbigen Produkte aus Xylose Bräunungsreaktionen mit Hilfe der UV-Spektroskopie

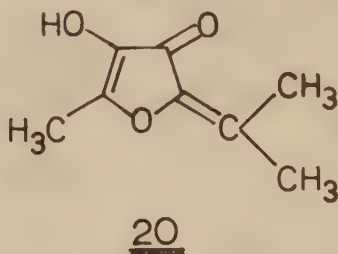
Bei den beschriebenen Untersuchungen wurden mit Hilfe des GC-MS-Systems hauptsächlich niedermolekulare, flüchtige Verbindungen identifiziert. Es konnten aber auch schwerer flüchtige, farbige Substanzen abgetrennt werden. U.Krönig¹⁸⁾ isolierte nach Umsetzungen von Pentosen mit Methylammoniumacetat die orangefarbenen Produkte 11 und 19.



19

11 und 19 sind Kondensationsprodukte von 9 mit Furfurol bzw. N-Methyl-2-formyl-pyrrol. Da das Furanon 9 eine CH-acide Verbindung darstellt, kann man erwarten, daß es auch mit zahlreichen anderen Carbonylverbindungen reagiert, die als Zuckerumwandlungsprodukte in den Bräunungslösungen auftreten. Bei der Extraktion eines Xylose/Methylamin-Reaktionsgemisches mit Methylenchlorid bleibt ein großer Teil der Umsetzungsprodukte in der wäßrigen Phase zurück. Deshalb versuchte ich mit stärker polaren Lösungsmitteln aus dem hydrophilen Anteil schwerer flüchtige Verbindungen zu erfassen. Ich unterwarf die erschöpfend mit Methylenchlorid extrahierte wäßrige Bräunungs-

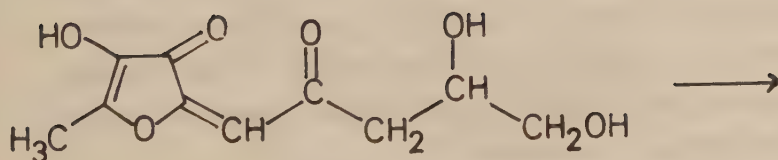
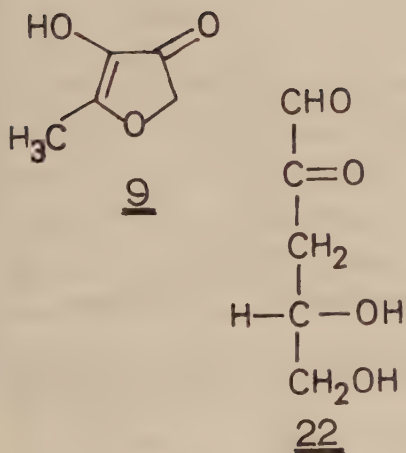
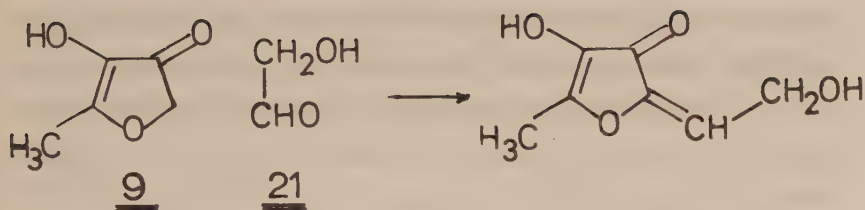
lösung einer weiteren Extraktion mit Äthylacetat/Aceton (3:1). Die organische Phase wurde auf präparativen Kieselgelplatten aufgetrennt. Auf der mit Benzol/Äthylacetat (1:1) entwickelten Platte war unter UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) eine dicke Substanzzone bei $R_f = 0,45 - 0,5$ durch Fluoreszenzlöschung sichtbar. Ich trennte die Schicht ab, eluierte und reinigte durch Sublimation im Hochvakuum. Die dabei erhaltenen gelben Kristalle sind auf Grund der Spektren als 2-Isopropyliden-4-hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (20) anzusehen.



Das IR-Spektrum zeigt eine OH-Bande bei 3140 cm^{-1} und eine CO-Bande bei 1685 cm^{-1} . Das UV-Spektrum weist Absorptionsmaxima bei 265 und 360 nm auf.

Noch aufschlußreicher ist das NMR-Spektrum. Die drei Methylgruppen ergeben Singuletts bei $\tau = 7,97, 7,70$ und $7,67$, die OH-Gruppe ein Signal bei $\tau = 6,50$.

Die Isolierung von 20 zeigt, daß das methylenaktive Furanon 9 sogar bei Raumtemperatur und annähernd neutralem Medium mit dem wenig reaktionsfähigen Aceton kondensieren kann. Es ist somit zu erwarten, daß auch Reaktionen mit Zuckerumwandlungsprodukten wie Desoxyzuckern, Glykolaldehyd, Methylglyoxal usw. stattfinden, z.B. :



Glykolaldehyd 21 entsteht durch Retro-Aldol-Reaktion aus Zuckerkern. Das 3-Desoxypentosen 22, eine wichtige Zwischenstufe auch bei der Bildung der niedermolekularen Maillard-Produkte, besitzt in der α -Dicarbonylgruppierung ein sehr reaktives Zentrum.

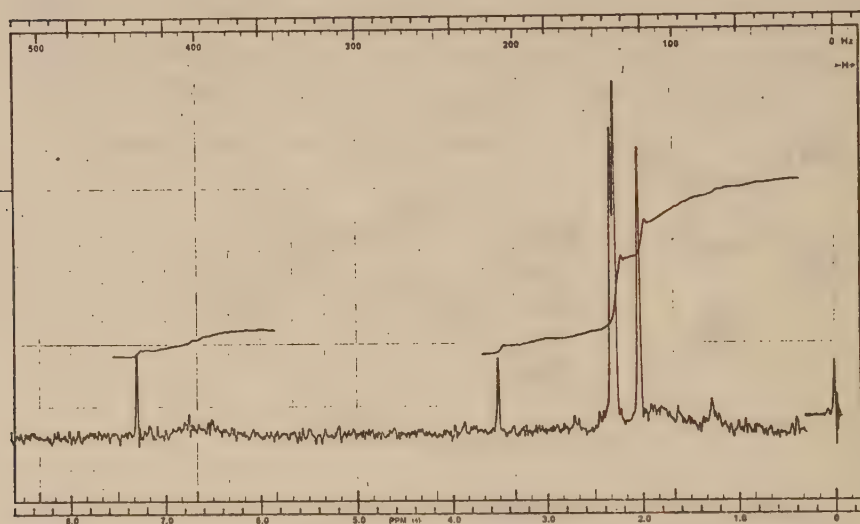
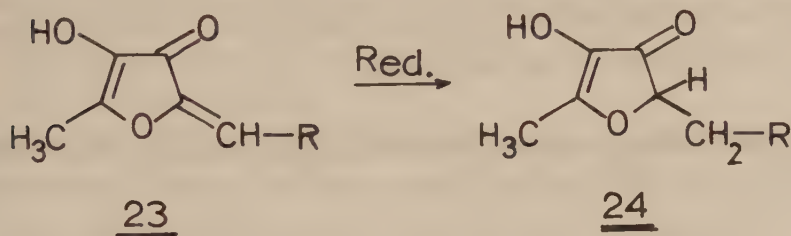


Abb.10: NMR-Spektrum von 20⁵⁰⁾

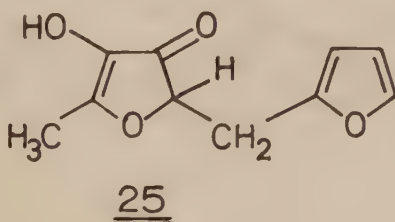
Ich versuchte Furfurol mit dem methylenaktiven Furanon 9 zu verknüpfen. Die Knoevenagel-Kondensation eignet sich gut zur Darstellung von 11. Unter dem katalytischen Einfluß von Piperidinacetat bildete sich die Verbindung in etwa 50%iger Ausbeute. Im Vergleich zu der von U.Krönig¹⁸⁾ entwickelten Darstellung aus Pentosen ist das von mir angewandte Verfahren beträchtlich ergiebiger.

Für alle bisher isolierten farbigen Verbindungen kann man die gemeinsame Struktur 23 formulieren. Die einzelnen Substanzen unterscheiden sich lediglich durch die Art des Restes R.



Enthält dieser Rest Doppelbindungen, so kann er auf die Lichtabsorption Einfluß nehmen. Daher ist es nicht möglich, bei unbekannten farbigen Produkten durch eine Messung der Lichtabsorption nachzuweisen, daß eine Substanz vom Typ 23 vorliegt. Gelänge es jedoch, die exocyclischen Doppelbindungen zu reduzieren, so würden die Produkte unabhängig von der Art des Restes R in der reduzierten Form 24 weitgehend die gleiche Lichtabsorption zeigen.

Tatsächlich gelang mir mit Natriumborhydrid eine partielle Reduktion der Methin- zur Methylengruppe. Es ließ sich so aus 11 das 2,3-Dihydro-2-furfuryl-4-hydroxy-5-methyl-furan-3-on (25) darstellen.



Die Struktur dieser Verbindung ergibt sich aus der Elementaranalyse und den Spektren.

Im IR-Spektrum zeigt sich die Hydroxylgruppe bei 3200 cm^{-1} und die Carbonylgruppe bei 1695 cm^{-1} . Das UV-Spektrum hat ein Absorptionsmaximum bei 285 nm und ist nach Lage und Form identisch mit dem der Verbindung 9.

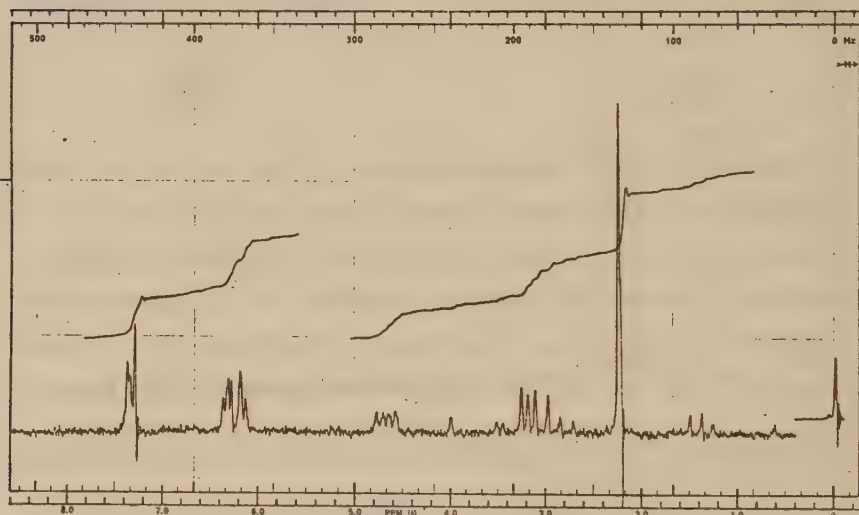
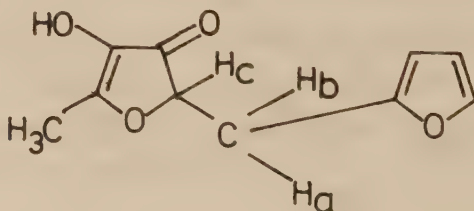


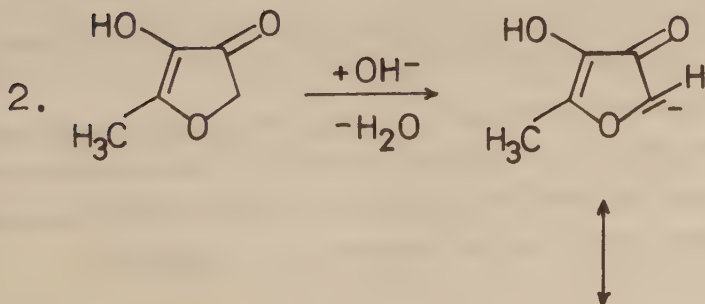
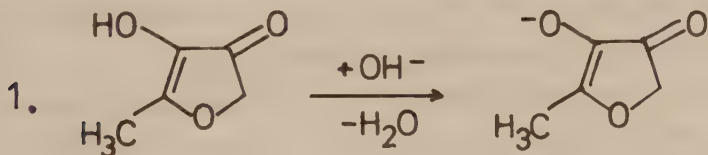
Abb.11: NMR-Spektrum von 25⁵⁰⁾

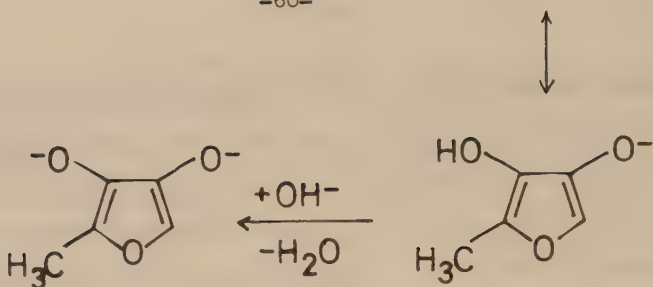
Besonders aufschlußreich ist das NMR-Spektrum. Die Protonen H_a , H_b und H_c bilden ein sogenanntes ABX-System.



Die geminalen Protonen H_a und H_b ergeben zwei Dubletts ($\tau = 7,1$ und $6,7$ mit der Kopplungskonstante von 15 Hz), die beide von dem vicinalen Proton H_c mit den unterschiedlichen Kopplungskonstanten von $J=4,0$ und $9,0\text{ Hz}$ aufgespalten werden. Für das Proton H_c findet man ein doppeltes Dublett bei $\tau=5,46-5,14$ ($J=4,0$ und $9,0\text{ Hz}$).

Der Chromophor 9 zeigt im UV-Spektrum ein Lichtabsorptionsmaximum bei 285 nm . Da diese Lage nicht sehr spezifisch ist, prüfte ich die pH-Abhängigkeit des Absorptionsmaximums. Bei Zugabe von verdünnter Natronlauge verschiebt sich das Maximum von 285 nach 325 nm . Beim anschließenden Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wird wieder das Ausgangsspektrum erhalten. Die Base bewirkt Deprotonierung.





Vergleicht man die Lichtabsorptionskurve von Resorcin mit den Lichtabsorptionskurven von Resorcin bei Zugabe von wenig und von viel Lauge, so beträgt die bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums im Falle des Monoanions 10 nm, des Dianions 25 nm.

Da die farbigen Produkte der Maillard-Reaktion mit der GC-MS-Methode nicht zu erfassen waren, sollten sie mittels säulenchromatographischer Methoden isoliert und zunächst durch UV-Spektroskopie charakterisiert werden.

Ich trennte den Methylenchloridextrakt einer Xylose/Methylammoniumtartrat-Reaktionslösung durch Adsorptionschromatographie an einer Kieselgel-Trockensäule auf. Nach Abtrennung eines hellgelben Vorlaufs eluierte ich eine orange Zone mit Methylenchlorid. Sie ergab im DC unter UV-Licht einen einheitlichen Fleck. Das Hauptprodukt dieser Zone konnte eindeutig als 9 identifiziert werden.

Bei weiterer Elution ließ sich noch eine dunkelrote Zone abtrennen, die aus zwei gelben Substanzen sowie mehreren Neben- und Substanzen bestand. Eine weitere Auftrennung dieses Substanzgemisches erwies sich als schwierig. Das langwellige

Absorptionsmaximum des Gemisches lag bei 320 nm. Die Form, die Intensität und die Lage der Farbkurve ist der von Substanz 11 ähnlich. Vergleicht man die UV-Spektren der Verbindungen 11, 20 und 25, so ist erkenntlich, daß die verschiedenartigen Substituenten Einfluß auf die Lage des Absorptionsmaximums nehmen.

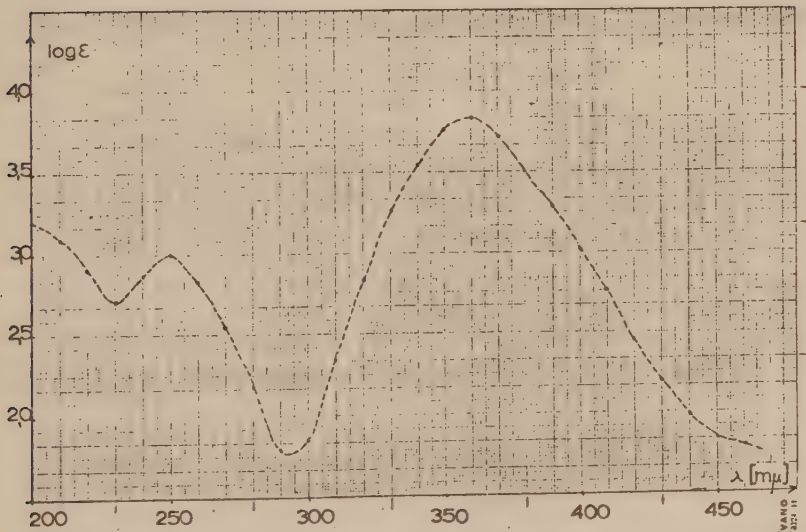


Abb.12: UV-Spektrum von 11 in Wasser

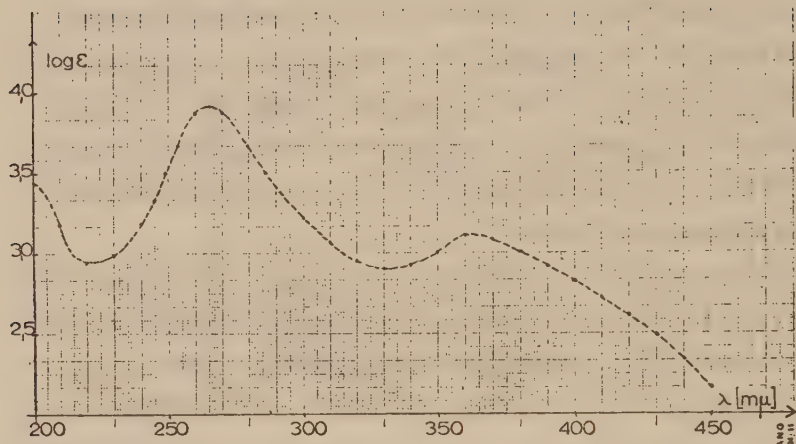


Abb.13: UV-Spektrum von 20 in Wasser

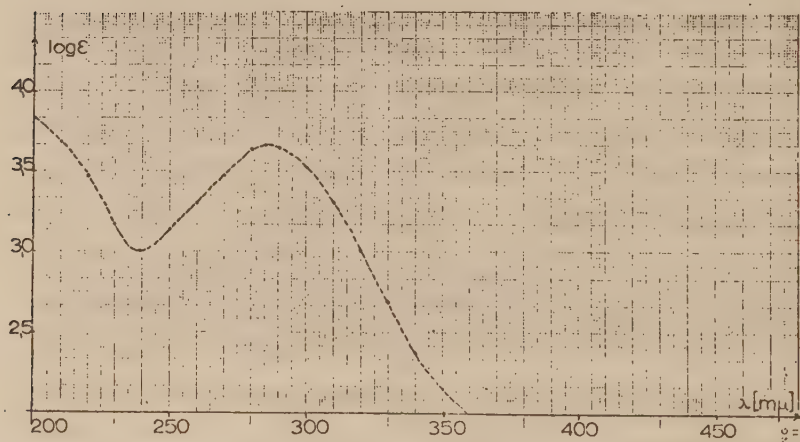
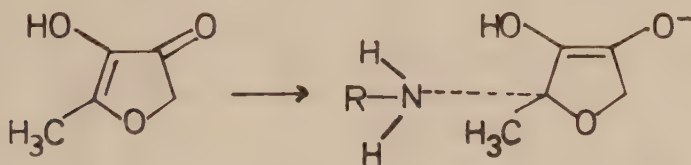


Abb.14: UV-Spektrum von 25 in Wasser

F. Bräunungsreaktionen von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-
furan-3-on (9)

Verbindung 9 entsteht bei den bisher beschriebenen Umsetzungen von Xylose mit Aminsalzen in beträchtlicher Menge. Es war von Interesse zu prüfen, ob sich 9 außer mit Carbonylverbindungen auch mit Aminen oder Ammoniumsalzen umsetzen läßt. Eine holländische Forschergruppe¹⁹⁾ erhitzte das Furanon 9 mit Schwefelwasserstoff sowie mit Cystein und identifizierte u.a. aus dem Reaktionsgemisch eine Reihe von Verbindungen mit Thiophengerüst. Auf Grund dieser Ergebnisse konnte angenommen werden, daß 9 auch mit primären Aminen Reaktionen eingeht.



So könnte z.B. die Carbonylgruppe eine Anlagerung des Amins ermöglichen. Als Folgereaktion wäre eine Ringaufspaltung denkbar.

Ich erhitzte 9 mit Methylamin und Eisessig im Molverhältnis 1:1:2 15 min im Ölbad auf 130°C (Innentemperatur). Die erkaltete Schmelze wurde in Wasser gelöst und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Den getrockneten und i.Vak. eingedampften organischen Extrakt destillierte ich in einer Retorte bei 0,1 Torr bis 150°C. Das in die Destillationsbrücke übergehende Öl wurde im Gaschromatographen aufgetrennt. Aus Abbildung 15 und Tabelle F sind die identifizierten Verbindungen zu ersehen.

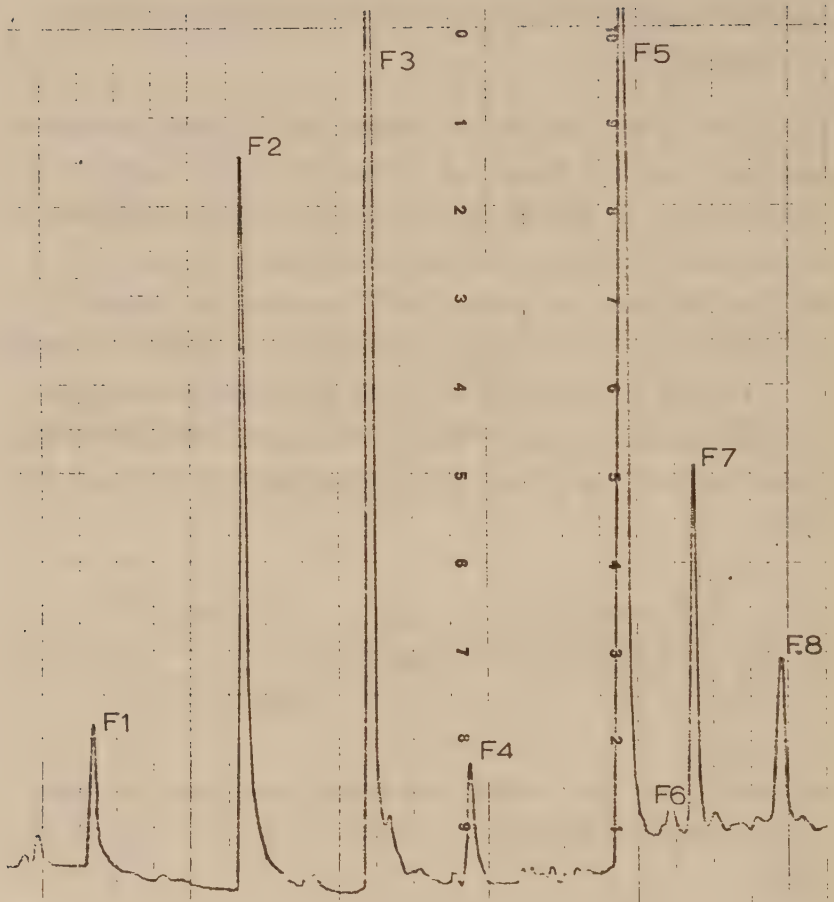
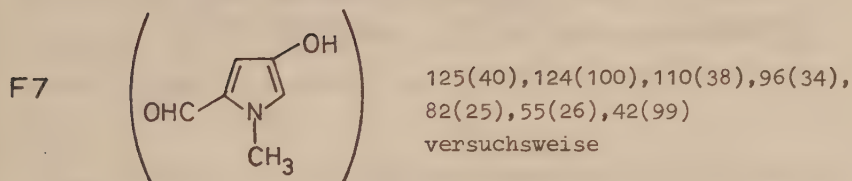
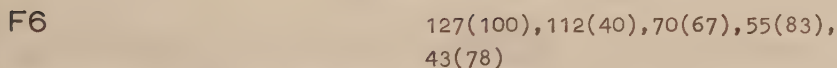
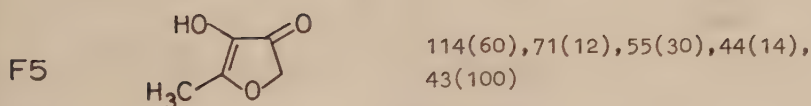
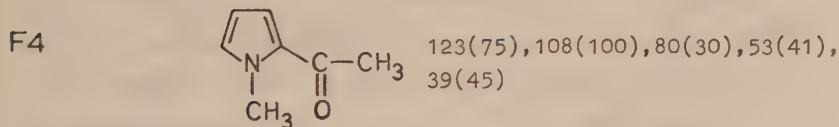
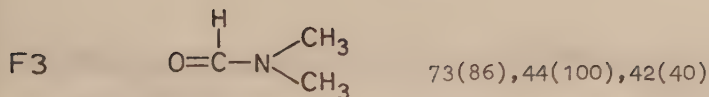


Abb.15

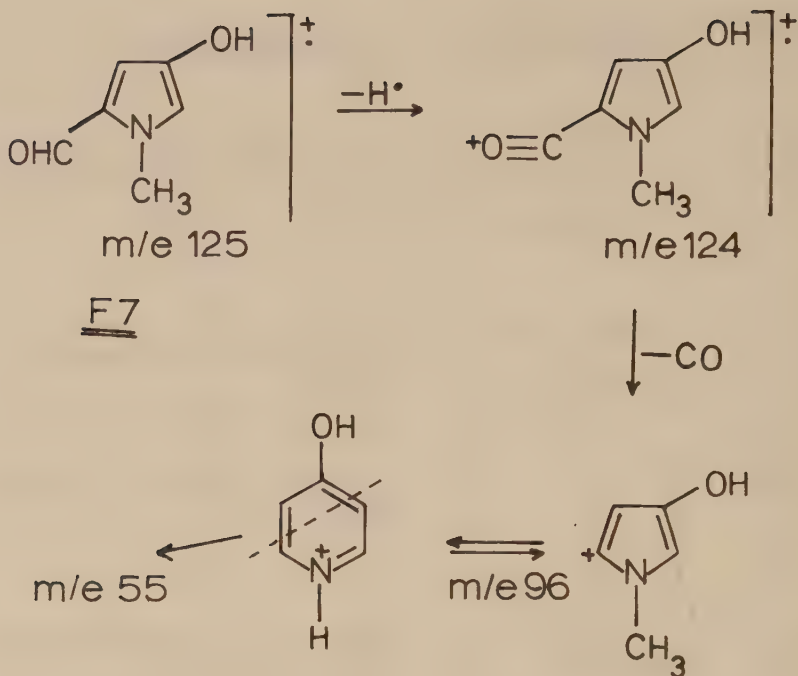
Tabelle F

F1	104(100), 103(45), 78(32), 51(21), 77(17)
F2	CH ₃ COOH 60(65), 45(93), 43(100)



Die eingesetzte Substanz 9 geht aus dieser Umsetzung größenteils unverändert hervor. Für F7 kann allein aus dem Massenspektrum nur versuchsweise eine Struktur angegeben werden.

Ein Zerfallsschema läßt sich wie folgt formulieren:



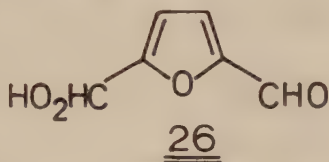
Die zum Basispeak führende Abspaltung eines H-Radikals und anschließende Eliminierung einer Carbonylfunktion deutet auf eine Aldehydfunktion hin. Durch Ringerweiterung erhält man das Bruchstück m/e 96, aus dem durch Spaltung des Sechsrings m/e 55 gebildet werden kann.

Die Umsetzung von 9 führte ich auch bei 150°C durch. Die Auswertung des Gaschromatogramms und der Massenspektren brachte dieselben Ergebnisse.

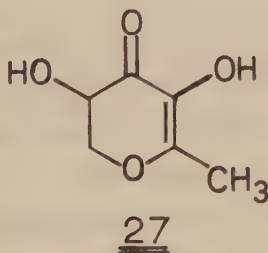
Bei der Umsetzung von 9 mit Methylammoniumacetat in wäßriger Lösung fand bei Temperaturen von 75°C und 100°C keine Reaktion statt.

G. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in neutra-
lem Milieu

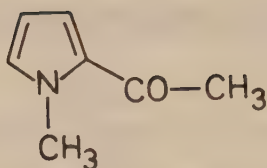
Sehr viel eingehender als Pentosen wurden Hexosen untersucht. Die säurekatalysierte Umwandlung von Hexosen zu 5-Hydroxy-methylfurfurol (26) ist bekannt.



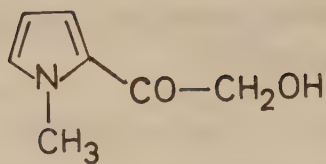
Andere Ergebnisse erzielte W.Seilmeier²⁰⁾ bei der Umsetzung von Glucose mit Alkylammoniumacetaten in wäßriger Lösung. Er isolierte 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-pyran-4-on (27), dessen Struktur allerdings erst später von Hodge²¹⁾ ermittelt wurde.



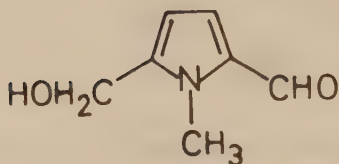
Die Versuchsbedingungen von W.Seilmeier wurden von G.R. Jurch and J.H. Tatum²²⁾ übernommen. Sie identifizierten neben 27 neue Verbindungen wie 2-Acetyl-1-methyl-pyrrol (28), 2-(2-Hydroxyacetyl)-1-methyl-pyrrol (29) und 2-Formyl-5-hydroxy-methyl-1-methyl-pyrrol (30).



28



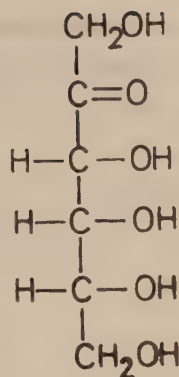
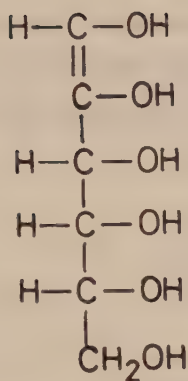
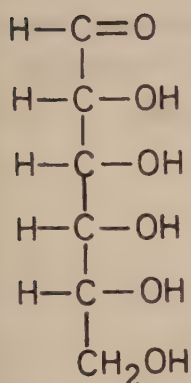
29



30

Da ich bei meinen Untersuchungen von Pentose-Bräunungsgemischen eine große Anzahl von Umwandlungsprodukten nachgewiesen hatte, lag es nahe, auch Reaktionsprodukte von Hexosen mit Methylammoniumacetat eingehender zu analysieren.

Ich erhitzte eine wäßrige Lösung von einem Mol Fructose, einem Mol Methylamin und 0,5 Mol Weinsäure auf 100°C. Da sich Fructose durch Isomerisierung aus Glucose bilden kann, konnten ähnliche Maillard-Produkte erwartet werden wie sie bei Glucose Bräunungsansätzen gefunden wurden.



GLUCOSE

FRUCTOSE

Auf die Extraktion der Bräunungslösung im Perforator mit Methylenchlorid erfolgte die Destillation im Vakuum bei 1-0,1 Torr und langsam ansteigender Temperatur bis 160°C. Dabei liessen sich drei Fraktionen sammeln: eine schwerer flüchtige (A₆) und die leichter flüchtigen B₆ und C₆ in den Kühlfallen. Jede dieser Fraktionen wurde im GC-MS-System untersucht. Die Abbildungen 16, 17 und 18 zeigen die Gaschromatogramme der aufgetrennten Fraktionen, Tabelle G enthält die identifizierten Verbindungen

Zur Erläuterung der Tabelle

Spalte a: Fraktion, in der die Substanz identifiziert wurde

Spalte b: Massenspektrum der Verbindung

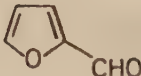
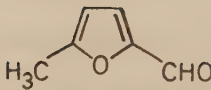
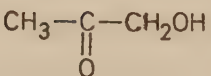
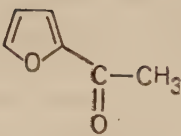
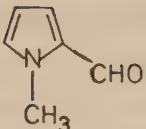
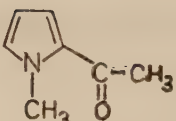
Spalte c: Literatur

1.MS-Literatur

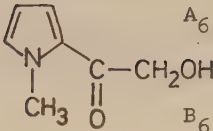
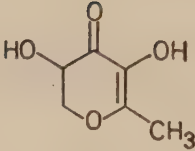
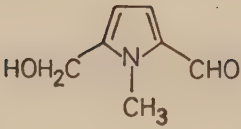
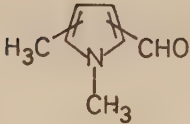
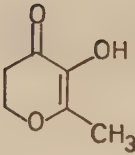
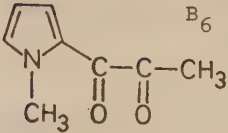
2.das Zeichen + gibt an, daß die Verbindung schon synthetisiert worden ist

3. aufgefunden in Lebensmitteln oder bei Modellreaktionen
Die Identifizierung der in der Tabelle angegebenen Verbindungen erfolgte durch Interpretation der Massenspektren.

Tabelle G

		a	b	c		
				1	2	3
G1		A ₆	96(100), 95(88), 39(34), 40(12)	23 + 38 + 40		35, 45, 49, 46, 23, 47, 9, 48, 26, 44
G2		A ₆ B ₆ C ₆	110(100), 109(88), 53(44), 27(17)	23 + 37		23, 37, 12, 35, 49
G3		B ₆ C ₆	74(7), 43(100)	25 +		
G4		C ₆	110(44), 95(100), 39(14)	38 +		12, 23, 27, 37, 42, 49
G5		A ₆ B ₆ C ₆	109(100), 108(85), 80(33), 53(45), 39(30)	25 +		2, 12, 16, 23, 25, 28, 37
G6		A ₆ B ₆ C ₆	123(87), 108(100), 80(30), 53(41), 39(25)	22 + 28		2, 12, 18, 22, 28

		a	b	c		
				1	2	3
G7	<chem>CC(=O)C(=O)C(O)C(=O)C</chem>	B ₆	144(37), 101(59), 73(33), 55(36), 43 (100)	22	+	
G8	<chem>CC1=C(C)N(C)C(=O)C1</chem>	A ₆	123(100), 122(70), 32 + 32 108(12), 94(55), 53 (39)			
G9		nicht rein				
G10	<chem>OCc1ccoc1</chem>	B ₆	98(100), 97(54), 81 (63), 70(36), 53(67), 42(78), 41(55)	52	+	9, 42, 43, 44, 45, 46
G11	<chem>CC1=C(C)OC(=O)C1=O</chem>	B ₆	112(48), 83(87), 108(54), 94(80)	25	+	
G12	<chem>OCc1cc(C)cc(C=O)o1</chem>	A ₆	140(38), 111(100), 109(49), 81(21), 53(40)			
G13	<chem>CC(=O)C(=O)c1cc(C)oc1</chem>	A ₆	152(13), 109(100), 53(17), 43(17), 27 (9)			
G14	<chem>CC1=C(C)OC(=O)C1=O</chem>	A ₆ B ₆	128(50), 82(24), 57(13), 43(100)	33	+	19, 26, 33, 34, 49, 36

		a	b	c		
				1	2	3
G15		A ₆ B ₆	139(70), 108(100), 80(22), 53(67), 39 (55)	22 +		22
G16		A ₆ B ₆	144(20), 115(2), 101 (20), 73(8), 43(100), 44(20)	39 +		36
G17			nicht rein			
G18		A ₆ B ₆	139(100), 138(18), 124(12), 122(43), 110 (14), 94(10), 93(11), 33 82(17), 67(18), 42(32), 39(37)	22 +		22, 32, 41, 16
G19		B ₆	123(100), 122(87), 108(52), 94(80)			
G 20		B ₆	128(27), 86(6), 85(6), 67(16), 57(18), 55(11), 43(100)			
G 21		B ₆	151(31), 108(100), 80 (27), 53(45), 39(46)			
G22		B ₆	nicht rein			

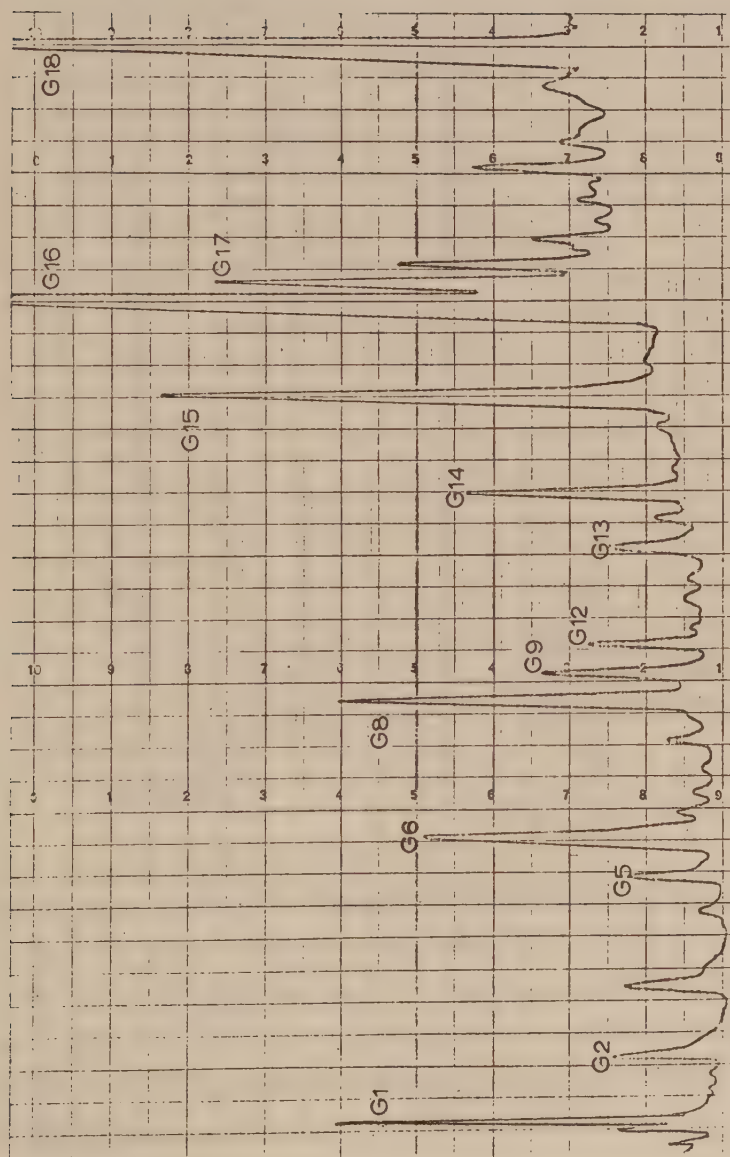


Abb.16: Fraktion A₆

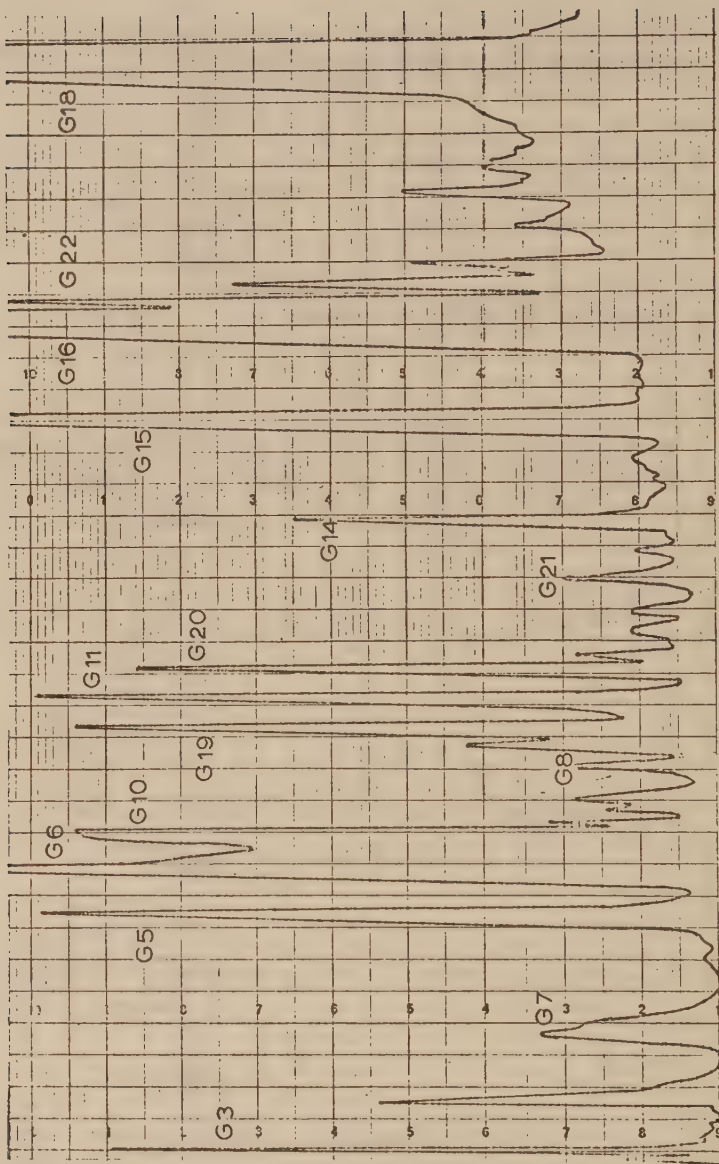


Abb.17: Fraktion B₆

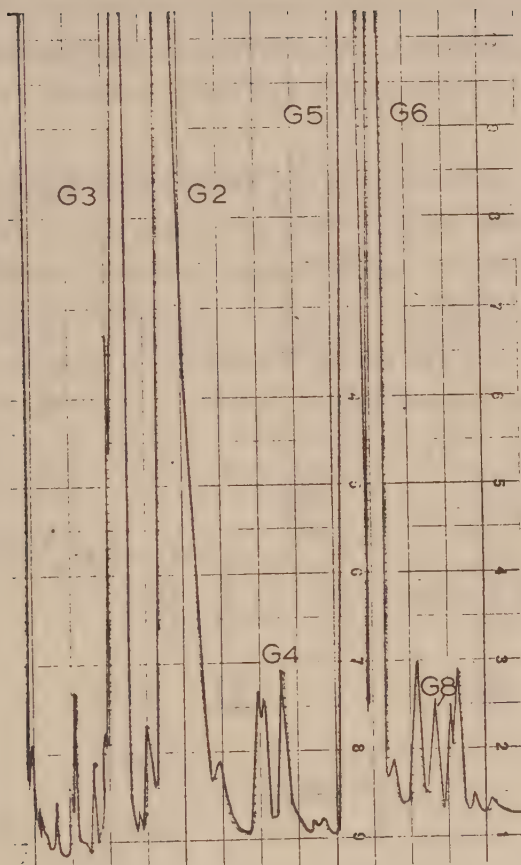


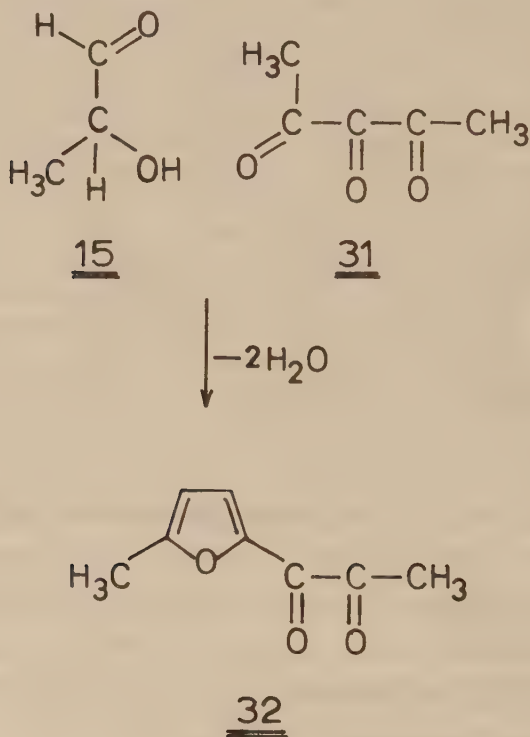
Abb.18: Fraktion C₆

Das Ergebnis zeigt, daß die gleichen Hauptprodukte auftreten wie bei einer entsprechenden Umsetzung von Glucose. Der Menge nach vorherrschend sind die Verbindungen 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-pyran-4-on (27), 2-(2-Hydroxyacetyl)-1-methylpyrrol (29) und 2-Formyl-5-hydroxymethyl-1-methylpyrrol (30).

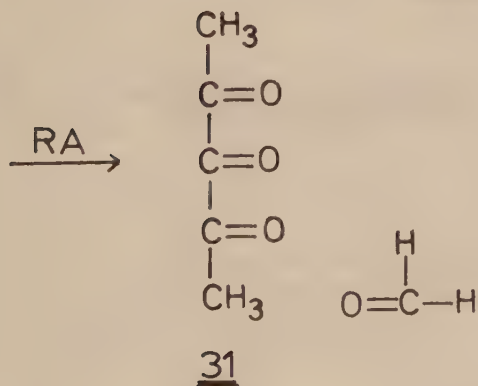
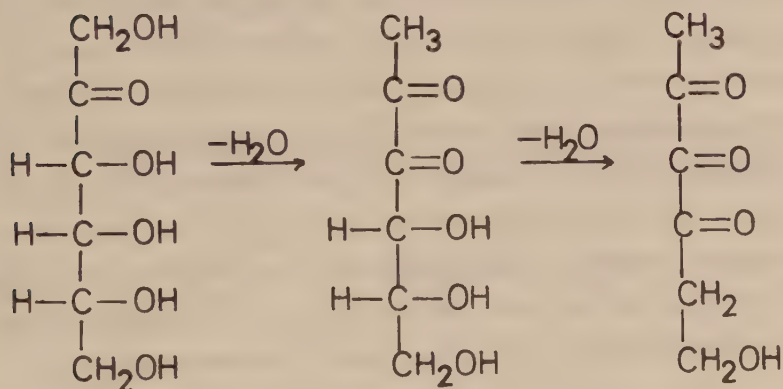
Relativ hoch ist auch die Konzentration an Furfurol (G1), 2-Acetyl-1-methyl-pyrrol (G6), 5-Formyl-2-methyl-1-methyl-pyrrol (G8) und 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-furan-3-on (G14).

Von besonderem Interesse sind die Verbindungen G12 und G13. Sie enthalten mehr als 6 C-Atome und zeigen somit, nach welchen Prinzipien Zucker und Zuckerspaltprodukte kondensieren können.

Die Bildung von G13 ist aus der Kondensation eines C3- und eines C5-Körpers denkbar.



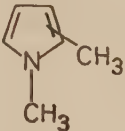
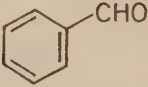
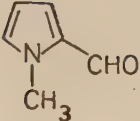
Das Triketon 31 könnte sich aus Fructose durch Abspaltung von Wasser und Formaldehyd bilden.

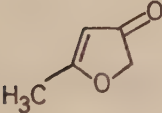
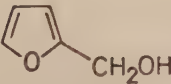
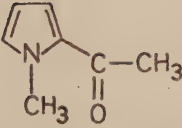
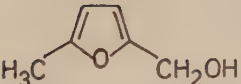
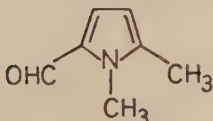


H. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers

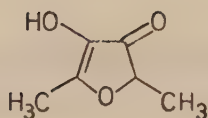
Aus Fructose Bräunungslösungen erhielt man ein komplexes Reaktionsgemisch. Deshalb versuchte ich wie bei der Xylose durch Einsatz eines schwach sauren Ionenaustauschers eine Vorfraktionierung zu erreichen. Durch Vakuumdestillation des Methylenchloridextraktes ließen sich die Fraktionen A₇ und C₇ sammeln. Durch Vortrennung von A₇ auf Kieselgel konnten die Zonen A₇a, A₇b und A₇c eluiert werden. Bei der anschließenden Destillation im Hochvakuum gingen gelbe Öle in die Vorlage über, die im GC-MS-System untersucht wurden. Die Fraktion C₇ wurde direkt im GC aufgetrennt. Die Abbildungen 19 und 20 zeigen die entsprechenden Gaschromatogramme. In der beiliegenden Tabelle H sind die gefundenen Substanzen mit ihren Strukturformeln angegeben.

Tabelle H

H 2		95(66), 94(100), 81(10), 53(23), 42(28), 41(12), 39(23)
H 4	CH ₃ COOH	60(99), 45(100), 43(77)
H 5		106(96), 105(97), 77(100), 51(36), 50(20)
H 6		109(100), 108(85), 80(30), 53(45), 39(36)

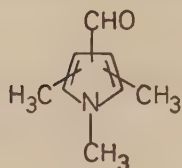
- H7 $\text{CH}_3-\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}_3$ 88(9), 45(100), 43(60)
- H8 $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{OH}$ 74(20), 43(100)
- H9 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{OH}$ 88(17), 57(81), 31(34), 29(100)
- H10  100(23), 72(40), 45(20), 44(22), 43(100)
- H11  98(100), 97(54), 81(63), 70(36), 53(67), 42(78), 41(55)
- H12  123(87), 108(100), 80(80), 53(41), 39(35)
- H13  112(84), 111(30), 95(100), 69(28), 43(63)
- H14  123(100), 122(76), 108(39), 94(64), 67(18), 53(25)

H15



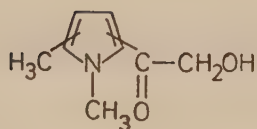
128(31), 85(17), 57(66), 45(12), 43(100)

H16



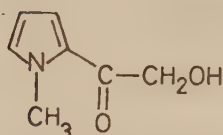
137(100), 136(95), 122(50), 108(43), 94(12), 67(29)

H17



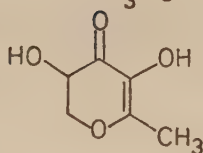
153(63), 122(100), 94(42), 67(22), 43(82)

H18



139(70), 108(100), 80(22), 53(67), 39(55)

H19

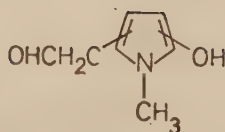


144(20), 101(20), 73(8), 72(15), 55(20), 43(100)

H20

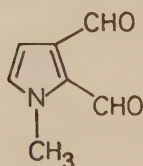
nicht rein

H21



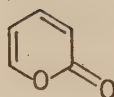
139(100), 138(88), 122(43), 122(43), 110(14), 94(10), 82(17), 42(32), 39(36)

H22



137(35), 108(100), 80(27), 53(28), 39(62)

H23



96(90), 68(80), 39(100)

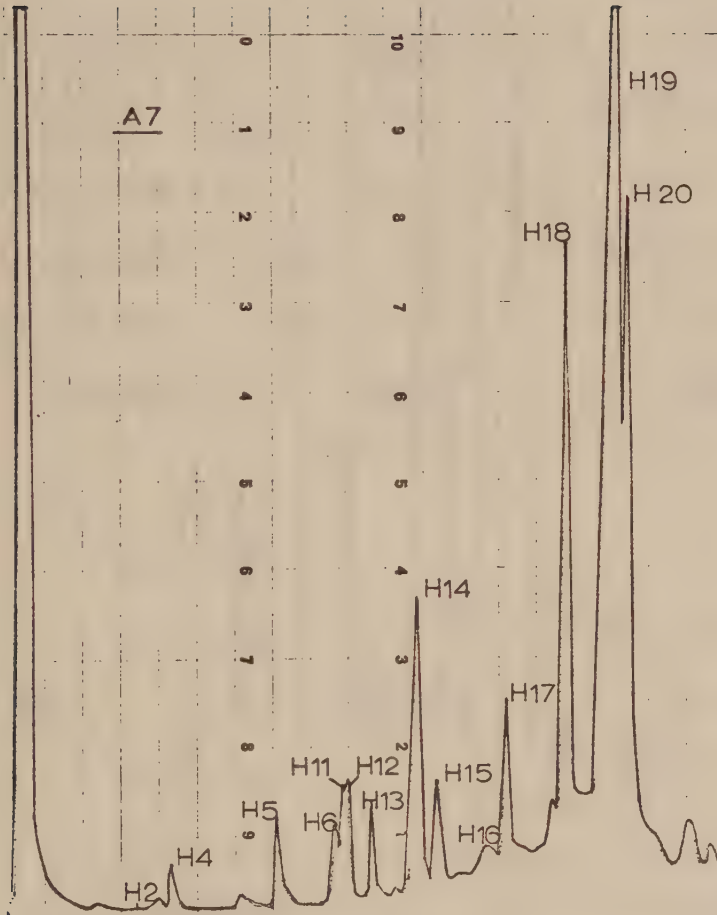


Abb.19: Fraktion A₇

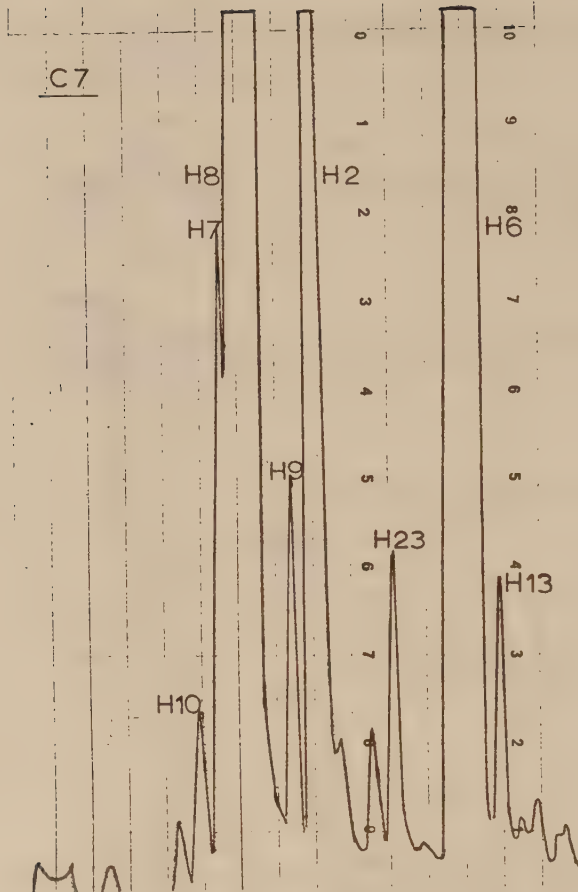
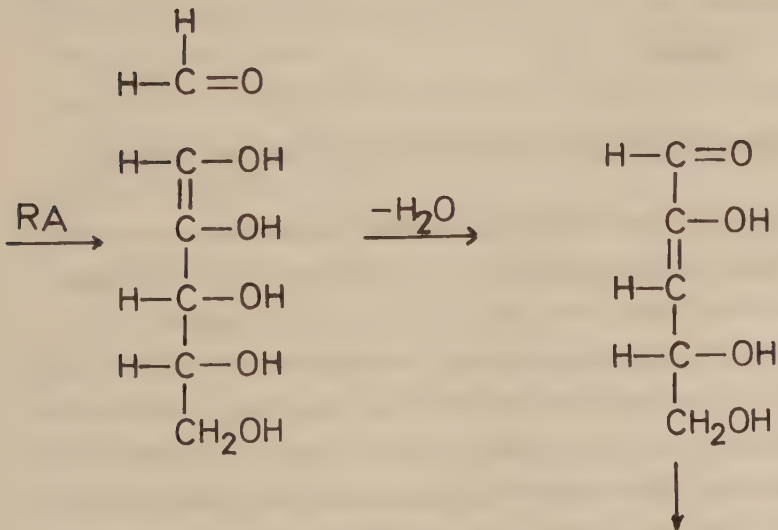
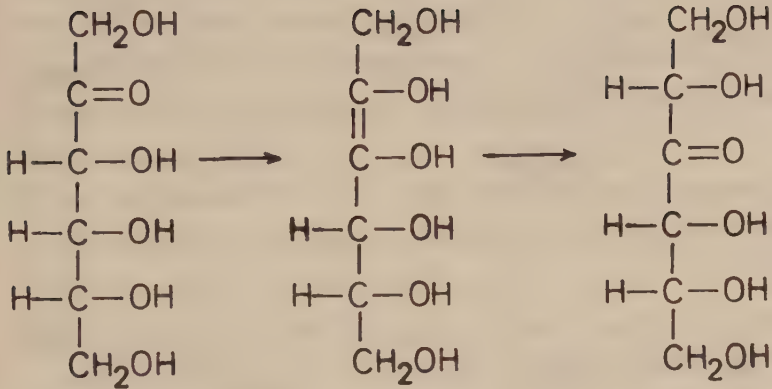


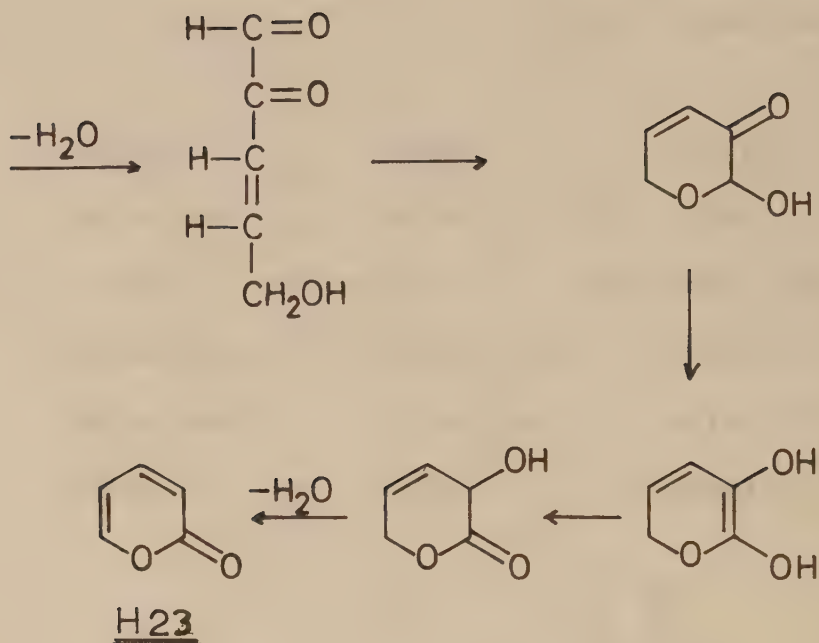
Abb.20: Fraktion C₇

Außer den bei den vorhergehenden Umsetzungen identifizierten Verbindungen konnten einige neue Substanzen nachgewiesen werden. Es sind dies Benzaldehyd(H5), 2-Methyl-2,3-dihydro-furan-3-on(H10) und das α -Pyron(H23).

Das α -Pyron könnte sich aus Fructose durch Abspaltung von Formaldehyd und anschließender Cyclisierung vom C1- zum C5-

Atom bilden:





I. Methylierung von Fructose/Methylamin Bräunungsgemischen

Mit Hilfe der gaschromatographischen Auftrennung von Pentose- und Hexose-Bräunungsgemischen konnte eine Reihe flüchtiger, niedermolekularer Verbindungen identifiziert werden.

Der Methylenchloridextrakt der Bräunungslösungen enthält aber noch viele schwerflüchtige Produkte. Diese lassen sich gaschromatographisch nicht mehr erfassen, da sie entweder polare Hydroxyl- und Aminogruppen enthalten oder zu hochmolekular sind. Es war zu erwarten, daß durch eine Derivatisierung der polaren Gruppen einige Kondensationsprodukte lipophil und damit besser chromatographierbar oder flüchtig gemacht werden

konnten. Man konnte außerdem annehmen, daß auch unter den schwerer flüchtigen Produkten Verbindungen mit Hydroxypyrrol- oder Hydroxyfuranstruktur enthalten sind.

Ich setzte 9 als Modellsubstanz ein, da es ein Hydroxyfuran darstellt und gleichzeitig eine reaktionsfähige Methylenketon=gruppierung enthält.

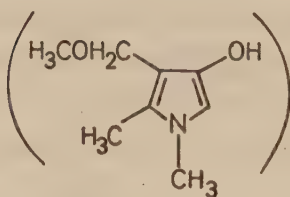
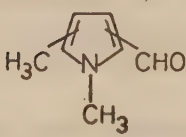
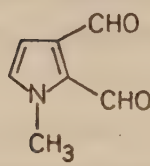
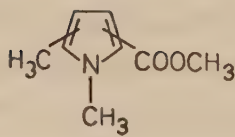
1. Die Claisen-Methylierung ergab zwei Produkte. Die einge=setzte Base Kaliumcarbonat dürfte aber zu schwach sein, da sich 9 zu 60% nicht umgesetzt hatte.
2. Mit der starken Base Natriumhydrid und dem Methylierungs=reagens Methyljodid im Lösungsmittel Tetrahydrofuran konn=te ein Produkt isoliert werden, das mit Hilfe des MS- und IR-Spektrums als 4-Methoxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on identifiziert wurde.
3. Mit Dimethylsulfat/Alkali entstand ein kompliziertes Reak=tionsgemisch, das u.a. in beträchtlicher Menge die Aus=gangssubstanz enthielt.
4. Bei der Umsetzung mit Diazomethan erhielt man ein Sub=stanzgemisch, in dem jedoch 9 nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

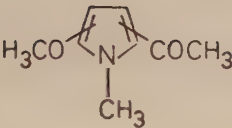
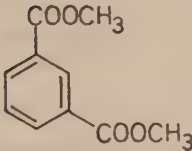
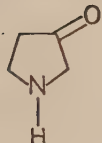
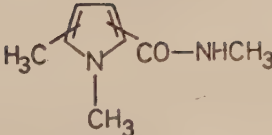
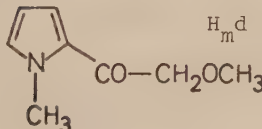
Verfahren 2 erwies sich danach als am besten geeignet. Der auf diese Weise methylierte, ölige Extraktionsrückstand des Fructose/Methylammoniumtartrat-Bräunungsgemisches wurde auf einer mit Aluminiumoxid beschickten Trennsäule eluiert, damit die nicht umgesetzten noch OH-Gruppen enthaltenden Verbindun=gen abgefangen wurden. Das orangegelbe Eluat trennte ich auf präparativen Kieselgelplatten im Laufmittel Benzol/Äthylace=tat. Durch Einteilung der Platten in 7 etwa gleich breite Zo=

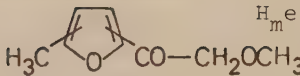
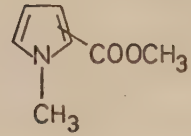
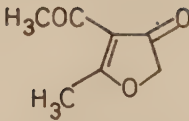
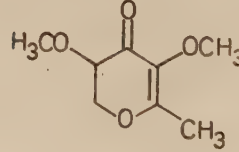
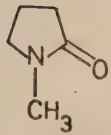
nen wurden die Fraktionen $H_{m,a}$ - $H_{m,g}$ erhalten, wobei der Index a die größte Laufgeschwindigkeit angibt. Jede dieser Fraktionen wurde im GC-MS-System untersucht.

Nachstehend sind in der Tabelle I die dazugehörigen Verbindungen wiedergegeben. Die Identifizierung erfolgte durch Interpretation der Massenspektren. Bei den Verbindungen der Zonen $H_{m,a}$ und $H_{m,c}$ liessen sich die Strukturen durch NMR- und IR-Spektren eindeutig festlegen.

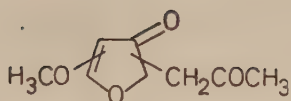
Tabelle I

		a	b
J1		$H_{m,b}$	155(50), 124(100), 110(70), $H_{m,d}$ 96(55), 53(42), 45(48), 43 $H_{m,f}$ (53)
		versuchsweise	
J2		$H_{m,b}$	123(95), 122(100), 94(42), 53(50), 39(41)
J3		$H_{m,b}$	137(45), 109(32), 108(100), 80(34), 53(47), 42(52), 39 (70)
J4		$H_{m,b}$	153(67), 122(100), 94(45), 53(27), 39(30)

		a	b
J5		H_m^b	153(85), 138(100), 122(25), 110(27), 82(33), 67(29), 42(45), 43(37)
J6		H_m^b	194(45), 163(100), 135(31), 120(10), 103(17), 104(12), 76(15), 50(12)
J7		H_m^b	168(100), 140(32), 127(30), 99(64), 70(99), 45(80), 43 (82), 42(75), 41(74)
J8		H_m^d	85(100), 56(20), 41(42), 30(40),
J9		H_m^d	169(54), 124(100), 138(37), 82(63), 45(44), 42(70), 39 (54)
J10		H_m^d H_m^e	152(62), 122(100), 94(43), 53(47), 42(48), 39(30)
J11		H_m^d	153(54), 108(100), 80(77), 53(25), 45(35), 39(18)

		a	b
J12		H_{me}	154(58), 109(100), 82(37), 53(22), 43(15)
J13		H_{me}	139(74), 108(100), 80(65), 53(39), 39(42)
J14		H_{me}	127(100), 99(21), 58(72), 42(61),
J15		H_{me} H_{mf}	178(70), 150(35), 149(31), 94(52), 56(100)
J16		H_{mf} H_{mg}	140(73), 97(100), 69(85), 55(44), 56(38), 43(78)
J17		H_{mf}	172(67), 141(38), 144(45), 101(20), 73(12), 72(20), 43 (100)
J18		H_{mg}	99(100), 98(68), 71(12), 44 (86), 43(20), 41(40)
J19		H_{mg}	171(100), 102(50), 70(40), 45(35), 42(38),

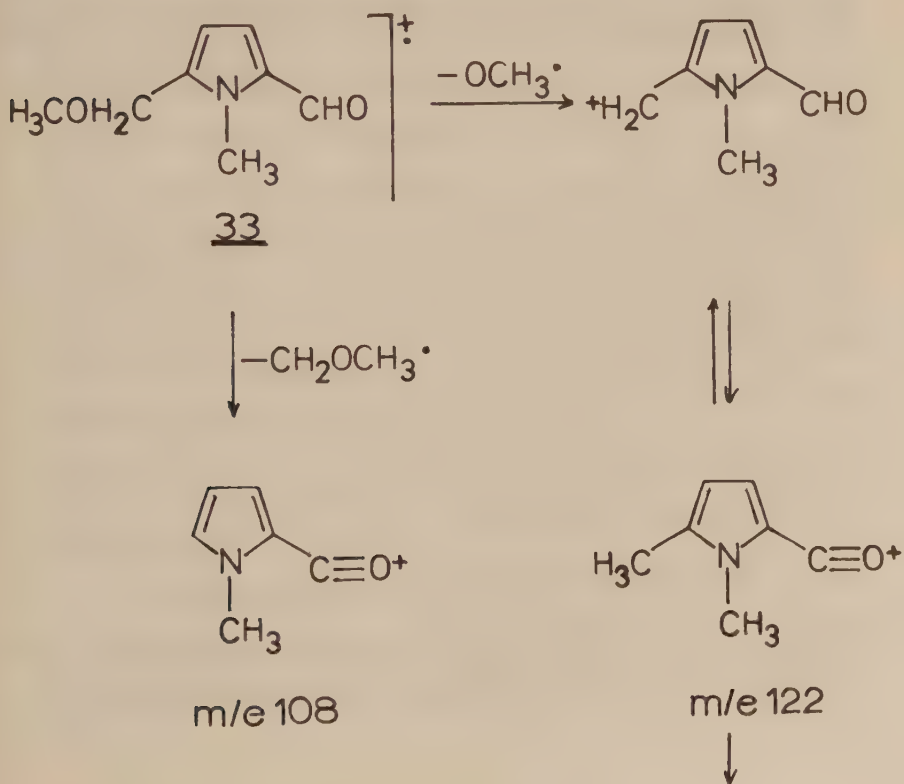
J 20

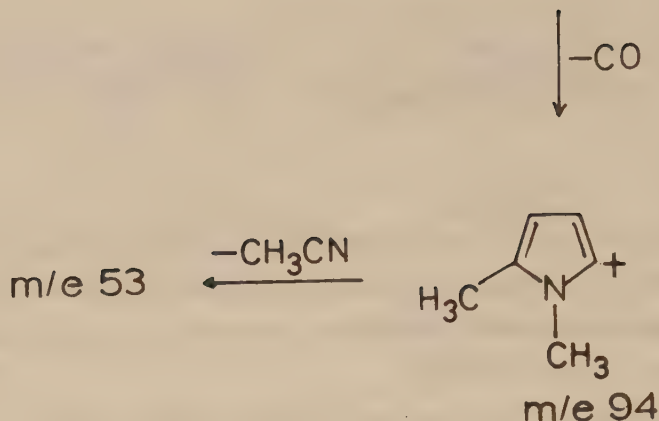


$H_{m.g}$ 170(93), 127(95), 97
(45), 58(85), 43(100)

Wie erwartet, treten die in der Fructose Bräunungslösung nachgewiesenen Verbindungen in methylierter Form wieder auf. Die Massenspektren dieser Verbindungen liessen sich ohne Schwierigkeiten interpretieren.

Als Beispiel sei der Abbau von 2-Formyl-5-methoxymethyl-1-methyl-pyrrol (33) wiedergegeben:





Die Primärfragmentierung führt zum (M^+-31)-Spaltprodukt m/e 122, das den Basispeak darstellt. Das Bruchstück m/e 108 ist durch Eliminierung des Methoxymethyl-Substituenten gebildet worden. Der Verlust der Carbonylgruppe von m/e 122 zu 94 und anschließende Abspaltung von CH_3CN führt zu m/e 53.

Verbindung 33 wurde in größerer Menge erhalten, so daß zusätzlich das IR- und NMR-Spektrum gemessen werden konnte.

Im IR-Spektrum erscheint die Carbonylfunktion bei 1665 cm^{-1} .

Für die Methoxygruppe findet man im NMR-Spektrum ein Signal bei $\tau=6,70$. Die N-Methylgruppe ergibt ein Singulett bei $\tau=6,10$ und die ringständige Methylengruppe ein Singulett bei $\tau=5,67$. Die Ringprotonen geben Dubletts, die bei $\tau=3,77$ und $3,10$ zentriert sind. Im tiefen Feld bei $\tau=9,5$ erscheint ein für ein Aldehydproton charakteristisches Signal.

Es muß noch untersucht werden, wie weit mit Hilfe dieser Methylierung auch höher molekulare Produkte erfasst werden können.

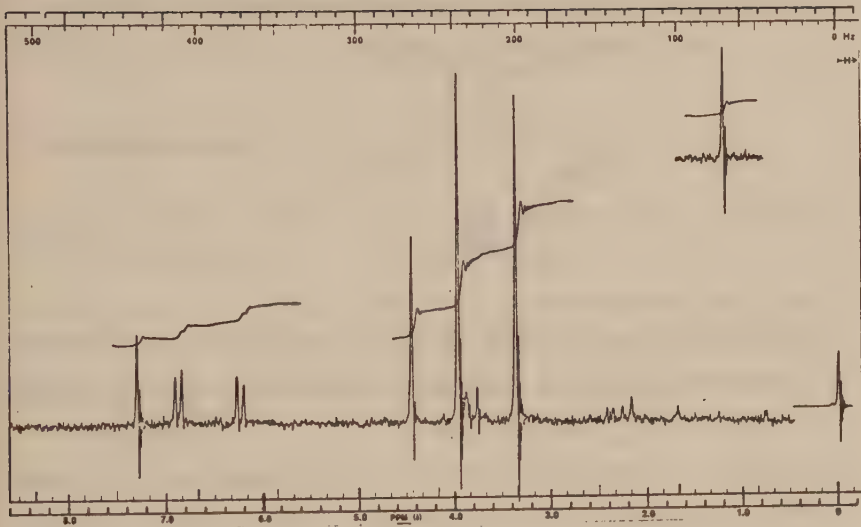
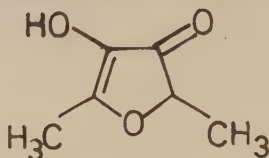


Abb.21: NMR-Spektrum von 33⁵⁰⁾

Aus vielen Veröffentlichungen ist zu entnehmen, daß Umsetzungen von Cystein und anderen Aminosäuren mit Pentosen bei der Bildung des Aromas von erhitztem Fleisch eine wichtige Rolle spielen. F.Ledl⁹⁾ konnte dies bei seinen Untersuchungen über die thermische Zersetzung von Xylose/Cystein-Mischungen bestätigen. Ein komplexes Reaktionsgemisch von O-, N- und S-haltigen Verbindungen wurde analysiert. Die schwefelhaltigen Verbindungen haben offenbar für das Fleischaroma eine besondere Bedeutung.

Bei der Untersuchung von Rindfleischbrühe wurden noch zwei weitere wichtige aus Zuckern stammende Aromakomponenten isoliert, nämlich 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9)

und 4-Hydroxy-3,5-dimethyl-2,3-dihydro-furan-3-on (34)¹⁹⁾.



34

Diese Ergebnisse veranlaßten mich, die beim Braten von Fleisch sich ergebende Sosse auf aromagebende Verbindungen, insbesondere aber auf 9 und 34 zu untersuchen.

Ich stellte aus abgehängtem Rindfleisch im Schmortopf eine Bratensosse her. Anschließend schüttelte ich sie mehrmals mit Petroläther aus, wobei das beim Braten verwendete Erdnußöl abgetrennt wurde. Die zurückbleibende wäßrige Lösung wurde 12 Stunden im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Die getrocknete organische Phase unterwarf ich anschließend einer fraktionierten Destillation am Hochvakuum. Die dabei übergehenden Fraktionen A_k-G_k wurden gaschromatographisch aufgetrennt. Die Identifizierung der Peaks erwies sich wegen der geringen Substanzmengen als sehr schwierig und wurde deshalb nicht weiter verfolgt.

Die im Perforator verbleibende wäßrige Lösung wurde gefriertrocknet und der Rückstand einer fraktionierten Destillation am Hochvakuum unterworfen. Die einzelnen Fraktionen untersuchte ich im GC-MS-System. Aus den in den Massenspektren auftretenden Bruchstücken konnte auf die Anwesenheit gesättigter und ungesättigter Aldehyde und Ketone, auf Alkohole und Säuren geschlos-

sen werden. Die Ausbeuten waren jedoch auch hier so gering, so daß eine eindeutige Auswertung nicht möglich war.

Zusammenfassung

Bei der thermischen Behandlung von Lebensmitteln treten häufig Bräunungsreaktionen auf. Als Beispiele lassen sich das Kochen, Backen, Braten, Rösten und Sterilisieren anführen.

Diese nichtenzymatischen Bräunungsvorgänge, die auf Umsetzungen von Zuckern mit Aminkomponenten beruhen, werden nach ihrem Entdecker als "Maillard-Reaktionen" bezeichnet. Dabei entstehen hochmolekulare, schwerflüchtige Verbindungen sowie flüchtige Substanzen mit mittleren und niederen Molekulargewichten, die wesentlich an der Aroma- und Geschmacksgebung beteiligt sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Spektrum der bisher gefundenen niedermolekularen Maillard-Produkte bei Pentose- und Hexose-Bräunungsgemischen zu erweitern. Da diese Verbindungen in den Reaktionsgemischen meist nur in geringer Konzentration vorliegen, konnte die Auftrennung und die Strukturzuordnung nur durch die Kombination von Gaschromatographie und Massenspektrometrie erfolgen.

Ich untersuchte die aus Xylose bzw. Fructose mit Methylamin unter verschiedenen Bedingungen gebildeten Bräunungsgemische. Durch Vakuumdestillation und präparative Schichtchromatographie an Kieselgel erfolgte eine Vorfraktionierung der Methylenchloridextrakte. Die Auftrennung in Einzelsubstanzen gelang mit Hilfe der Gaschromatographie. Zur Identifizierung

wurden in erster Linie die Massenspektren herangezogen. Die komplexen Reaktionsgemische enthielten vorwiegend stickstoff- und sauerstoffhaltige Heterocyclen.

Verschiedene Methoden zur Methylierung OH-Gruppen-haltiger Heterocyclen wurden erprobt. Durch eine derartige Derivatisierung wird die Auftrennung komplexer Reaktionsmischungen erleichtert.

U.Krönig¹⁸⁾ konnte erstmals zwei farbige Verbindungen aus Xylose/Methylammoniumacetat-Reaktionsmischungen abtrennen. Es handelt sich um Kondensationsprodukte des 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9) mit Furfurol bzw. mit einem Pyrrolaldehyd.

Weitere Untersuchungen machten wahrscheinlich, daß viele ähnlich strukturierte Verbindungen an der Farbbildung beteiligt sind. Es konnte gezeigt werden, daß derartige Farbstoffe an der durch die jeweilige Kondensationsreaktion neu gebildeten Doppelbindung partiell reduzierbar sind. Damit erhält man weitgehend gleiche farbgebende Systeme und man kann umgekehrt unbekannte Farbstoffe dieses Typs nach einer Reduktion durch einfache UV-Messung zuordnen. Es bleibt noch zu prüfen, wie weit sich dieses Verfahren bei der Untersuchung von Maillard-Reaktionen bewährt.

Literaturverzeichnis

- 1) G.P.Ellis, Advances Carbohyd.Chem. 14, 63(1959)
- 2) T.M.Reynolds, Advances Food Res. 12, 1(1963)
Advances Food Res. 14, 167(1965)
- 3) T.L.Tan, M.L.Wolfram und A.W.Langer, J.Am.chem.Soc. 72,
5090(1950)
- 4) K.Heyns und E.Hauber, Liebig's Ann.Chem. 733, 159(1970)
- 5) L.C.Maillard, C.R.hebd.Seances Acad.Sci. 154, 66(1912)
- 6) K.Heyns, K.H.Eichstedt und K.H.Meinecke, Chem.Ber. 88,
1551(1955)
- 7) H.Simon und G.Heubach, Chem.Ber. 98, 3703(1965)
- 8) H.Kato und J.Sakurai, Agr.Biol.Chem. 27, 33(1963)
- 9) F.Ledl, Th.Severin, Dissertation München (1973)
- 10) H.Shigematsu, T.Kurata, H.Kato und M.Fujimaki, Agr.Biol.
Chem. 36, 1631(1972)
- 11) K.Eichner, Dtsch.Lebensm.-Rundschau 69, 4(1973)
- 12) H.Kato und M.Fujimaki, J.Food Sci. 33, 445(1968)
- 13) Th.Severin und W.Seilmeier, Z.Leb.Unters.-Forsch. 134,
230(1967)
- 14) A.Loidl, Geplante Dissertation München (1976)
- 15) G.Manninger, Geplante Dissertation München
- 16) U.Krönig, Dissertation München (1974)
- 17) Th.Wieland, Dissertation München (1972)
- 18) Th.Severin und U.Krönig, Chem.Mikrobiol.Technol.Lebensm.
1, 153-157(1972)
- 19) E.H.M.Greuell, J.Am.Oil Chemist's Soc. 51, 98 (1974)
- 20) Th.Severin und W.Seilmeier, Z.Leb.Unters.-Forsch. 137,
4(1986)

- 21) J.E.Hodge und E.C.Nelson, Cereal.Chem. 38, 207(1961)
- 22) G.R.Jurch, J.H.Tatum, Carbohyd.Res. 15, 233-239(1970)
- 23) P.E.Shaw, J.H.Tatum und R.E.Berry, Carbohyd.Res. 5,
266-273(1967)
- 24) Th.Severin und U.Krönig, Z.Leb.Unters.-Forsch. 152,
42(1973)
- 25) E.Stenhagen, S.Abrahamsson, F.W.McLafferty, "Atlas of
Mass Spectral Data, Volume 1", John Wiley and Sons, Inc.
1969
- 26) H.Kato, H.Shigeamtsu, T.Kurata, M.Fujimaki, Agr.Biol.
Chem. 36, 9, 1639-1642(1972)
- 27) E.F.L.J.Anet, Advances Carbohyd.Chem 19, 181(1964)
- 28) G.Manninger, Th.Severin, Z.Leb.Unters.-Forsch. im Druck
- 29) B.Hicks, D.W.Harris, M.S.Feather, R.N.Loepky,
J.Agr.Food Chem. 22, 724(1974)
- 30) KH.Bräutigam, Dissertation München (1973)
- 31) G.Ciamician, P.Silber, Chem.Ber. 20. 1368(1887)
- 32) I.Ipach, Dissertation München (1975)
- 33) J.O.Rodin, J.Food Sci. 30, 280(1965)
- 34) D.W.Henry, R.M.Silverstein, J.Org.Chem. 31, 2391(1966)
- 35) K.Heyns, R.Stute und H.Paulsen, Carbohyd.Res. 2, 132(1966)
- 36) W.Seilmeier, Dissertation München (1968)
- 37) J.H.Tatum, P.E.Shaw, R.E.Berry, J.Agr.Food Chem. 15, 773
(1967)
- 38) Q.N.Porter, J.Baldas, "Mass Spectrometry of Heterocyclic
Compounds", J.Wiley & Sons, Inc. New York 1971
- 39) F.D.Mills, D.Weisleder, J.E.Hodge, Tetrahedron letters
15, 1243(1970)

- 40) K.Heyns, R.Stute, H.Scharmann, Tetrahedron 22, 2223(1968)
- 41) M.Nonaka, D.R.Black, E.L.Pippen, J.Agr.Food Chem. 15,
713(1967)
- 42) A.Feretti, V.P.Flanagan, J.Agr.Food Chem. 21, 35(1973)
J.Agr.Food Chem. 19, 245(1971)
- 43) Th.E.Kinlin, R.Muralidhara, A.O.Pittet, A.Sanderson, J.P.
Walradt, J.Agr.Food Chem. 20, 1021(1972)
- 44) J.Steffelsma, G.Simpa, D.K.Kettenes und J.Pypker,
J.Agr.Food Chem. 16, 1000(1968)
- 45) R.M.Sheldon, R.C.Lindsay, L.M.Libbey, J.Food Sci. 37,
313(1972)
- 46) J.P.Walradt, R.C.Lindsay, L.M.Libbey, J.Agr.Food.Chem.
18, 926(1970)
- 47) A.Cornu, R.Massat, "Compilation of Mass Spectral Data"
Heyden & son, London 1966
- 48) B.R.Johnson, G.R.Waller, R.L.Foltz, J.Agr.Food Chem. 19,
1025(1971)
- 49) J.S.Fagerson, J.Agr.Food Chem. Vol. 17, No 4, 747(1969)
- 50) gemessen in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als
innerer Standard

Experimenteller Teil

A. Karamellisierung von Xylose mit Methylammoniumacetat

1. In einem 250 ml Rundkolben mit aufgesetztem Steigrohr werden 140 g Xylose, 54 g Methylamin (35 proz.wäßr. Lösung) und 18 g Eisessig unter Rühren 30 min auf 100°C erhitzt. Die erkaltete braune, amorphe Masse wird pulverisiert, in 200 ml Wasser gelöst und 12 h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Den hellbraunen organischen Extrakt trocknet man mit Na₂SO₄ und dampft i.Vak. ein. Der ölige Rückstand wird aus einer Retorte bei 1-0,1 Torr fraktioniert destilliert. Man erhält drei Fraktionen:

Fraktion A₁ in der Destillationsbrücke bis 90°C

Fraktion B₁ in der Destillationsbrücke von 90-170°C

Fraktion C₁ in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

A₁ enthält farblose Kristalle, die bei 60°C übergehen.

Identifizierung:

4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9)

Ausb. 0,2% bez. auf Xylose, Schmp. 122°C (Zers).

Nach einer Vorschrift von Th. Severin und W. Seilmeier¹³⁾ synthetisiert, Vergleich der IR- und MS-Spektren

MS: m/e 114(60, M⁺), 71(12), 55(30), 44(15), 43(100)

IR(KBr): 3200, 1690, 1630 cm⁻¹

Fraktion B₁ wird mit wenig Methanol verdünnt und gas=chromatographisch aufgetrennt.

Modell: VARIAN Aerograph Series 1400

Säule: Stahlsäule 8' x 1/8", 2 m Länge, 2,5% SP 1000 auf Chromosorb G AW-DMCS, 80-100 mesh (Perkin Elmer)

Säulentemperatur: Programm von 60-220°C 4°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 250°C

Gasdurchfluß: 25 ml/min

Identifizierung: durch GC-MS-Analyse

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Aerograph Series 2700

Säule: Stahlsäule 2,5% SP 1000 auf Chromosorb G AW-DMCS, 2 m Länge, 1/8" Ø, mesh 80-100 (Perkin Elmer)

Säulentemperatur: 5 min bei 60°C, Programm 60-220°C 4°/min
15 min auf 220°C

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 280°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 280°C

Die Gaschromatogramme und die identifizierten Verbindungen sind im theor. Teil unter Abb.1 und Tabelle A zu finden.

Fraktion C₁, das in der auf -78°C gekühlten Falle kondensierte Destillat, wird mit Hilfe des GC-MS-Systems untersucht. Modell, Säule und Betriebsbedingungen entsprechen denen bei Fraktion B (vergl. Abb.2, Tabelle A im theor. Teil)

2. In einem 250 ml Rundkolben mit aufgesetztem Steigrohr werden 140 g Xylose, 54 g 35 proz.wäBr. Methylaminlösung und 18 g Eisessig unter Rühren 15 min auf 150°C erhitzt.

Aufarbeitung der erkalteten Masse siehe unter A₁.

Nach der Destillation erhält man wieder drei Fraktionen:

A₂ in der Destillationsbrücke bis 90°C

B₂ in der Destillationsbrücke von 90-170°C

C₂ in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

Fraktion A₂ enthält einheitlich farblose Kristalle, die bei 1-0,1 Torr und 60-90°C übergehen.

Identifizierung: siehe unter Fraktion A₁.

Fraktion B₂ wird mit wenig Methanol verdünnt und gaschromatographisch aufgetrennt. Modell, Säule und Betriebsbedingungen siehe unter Aufarbeitung von B₁.

Identifizierung: durch GC-MS-Analyse

Modell, Säule und Betriebsbedingungen entsprechen denen bei der Identifizierung von B₁ (vergl. Abb.3, Tabelle B im theor. Teil).

Fraktion C₂ wird direkt mit dem GC-MS-System untersucht. Modell, Säule und Betriebsbedingungen wie bei der Identifizierung von B₂.

B. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in schwach basischem wäßrigen Milieu

140 g Xylose werden mit 54 g 35 proz. wäßr. Methylaminlösung und 18 g Eisessig in 540 g Wasser unter Rückfluß 2 h zum Sieden erhitzt. Die erkaltete braune Lösung wird 12 h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Den organischen Extrakt trocknet man mit Na₂SO₄ und dampft i.Vak. ein.

Der ölige Rückstand wird aus einer Retorte bei 1-0,1 Torr fraktioniert destilliert. Man erhält vier Fraktionen:

A₃ in der Destillationsbrücke bis 90°C

B₃ in der Destillationsbrücke von 90-160°C

C₃ in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle

D₃ in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

Fraktion A₃ enthält farblose Kristalle, die bei 60-90°C übergehen.

Identifizierung: siehe unter A, Fraktion A₁.

Fraktion B₃ wird mit wenig Methanol verdünnt und gaschromatographisch aufgetrennt.

Modell: VARIAN Aerograph Series 1400

Säule: Stahlsäule 8' x 1/8", 2,5 m Länge, 5% Carbowax 6000 auf Chromosorb W AW-DMCS, mesh 60-80

Säulentemperatur: Programm 80-220°C 2°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 250°C

Identifizierung: durch GC-MS-System

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Aerograph 2700

Säule: Stahlsäule 5% Carbowax 6000 auf Chromosorb W AW-DMCS, 1/8", 2,5 m Länge, mesh 60-80

Säulentemperatur: Programm 80-220°C, 15 min auf 220°C 2°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 280°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 250°C

Das Gaschromatogramm sowie die den Peaks zugeordneten Verbindungen sind im theor. Teil abgebildet (vergl. Figur 4, Tabelle C).

Fraktion C₃, das in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle kondensierte Destillat wird direkt der GC-MS-Analyse unterworfen. Modell, Säule und Betriebsbedingungen wie bei der Identifizierung von B₃. Das Gaschromatogramm und die dazugehörigen Verbindungen sind im theor. Teil unter Abb.5 und Tabelle C zu finden.

Fraktion D₃ wird ebenfalls mit dem GC-MS-System untersucht. Identifizierung: siehe unter B₃ und C₃ (vergl. Abb.6, Tabelle C).

C. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in neutralem wäßrigen Milieu

150 g Xylose werden mit 93 g 35 proz. wäßr. Methylaminlösung und 75 g Weinsäure in 300 g Wasser unter Rückfluß 2 h zum Sieden erhitzt. Die erkaltete braune Lösung extrahiert man 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird mit CaCl₂ getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den Rückstand destilliert man bei 1-0,1 Torr im Hochvakuum. Man erhält drei Fraktionen:

A₄ in der Destillationsbrücke bis 150°C

B₄ in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle

C₄ in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

A₄ und B₄ werden vereinigt und mit Methanol verdünnt. Die Auftrennung der methanolischen Lösung erfolgt mittels präparativer Kieselgel-Schichtchromatographie auf PSC-Fertigplatten (Kieselgel F 254, Merck, Schichtdicke 2 mm) im Laufmittel Benzol/Äthylacetat 2:8. Die Platten werden nach Entwicklung in acht etwa gleich breite Zonen aufgeteilt. Man erhält so die Zonen P_na - P_nh, wobei der Index a die Zone mit der größten Laufgeschwindigkeit angibt. Die Zonen werden ausgekratzt, mit Methanol eluiert und im Hochvak. bei 0,1 Torr destilliert. Die in die Destillationsbrücke übergehenden Fraktionen werden mit Hilfe des GC-MS-Systems untersucht.

P_na: bis 160°C, hellgelbes Öl mit Kristallanteil

P_nb: bis 160°C, gelbes Öl

P_nc: bis 150°C, dunkelbraunes Öl

P_nd: bis 150°C, hellgelbes Öl

P_ne: bis 160°C, gelbes Öl

P_nf: bis 90°C, farblose Kristalle: Identifizierung siehe A₁
von 90-160°C, dunkelbraunes Öl

P_ng: bis 160°C, gelbes Öl

P_nh: bis 150°C, hellgelbes Öl

Identifizierung: durch GC-MS-Analyse

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Aerograph Series 2700

Säule: Stahlsäule 5% Carbowax 6000 auf Chromosorb W AW-DMCS,
1/8", 2,5 m Länge, mesh 100-120

Säulentemperatur: Programm 80-220°C 4°/min, 10 min auf 220°C

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 280°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 280°C

Die Gaschromatogramme von P_n^a - P_n^h sind im theor. Teil abgebildet. Die identifizierten Verbindungen sind in Tabelle D aufgeführt.

Das Destillat C_4 wird gaschromatographisch aufgetrennt und im GC-MS-System untersucht. Modell, Säule und Betriebsbedingungen entsprechen denen bei der Identifizierung von A_4 und B_4 .

D. Bräunungsreaktionen von Xylose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers

140 g Xylose werden mit 35 g Amberlite, Typ IRC-84, das mit 8,4 g Methylaminlösung beladen ist, in 720 g Wasser unter Rückfluß 2 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten filtriert man den Ionenaustauscher ab und extrahiert das dunkelbraune Filtrat 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den Rückstand destilliert man aus einer Retorte bei 1-0,1 Torr. Man erhält drei Fraktionen:

A_5 in der Destillationsbrücke bis 150°C

B_5 in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle

C_5 in der mit Methanol/ CO_2 gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

Fraktion A_5 wird mit Methanol verdünnt und auf einer PSC-Fertigplatte (Kieselgel F 254, Schichtdicke 2 mm) im Lauf=

mittel Methylenchlorid/Aceton 9:1 chromatographiert. Auf der getrockneten Platte werden drei Zonen ausgekratzt, mit Methanol eluiert und im Hochvakuum bei 1-0,1 Torr destilliert:

A_{5a} bei einem Rf-Wert von 0,2-0,3 bis 130°C

A_{5b} bei einem Rf-Wert von 0,45-0,55 bis 90°C

A_{5c} bei einem Rf-Wert von 0,65-0,75 bis 90°C

Identifizierung:

A_{5a} wird mit Hilfe des GC-MS-Systems untersucht

Gaschromatographie

Modell: YARIAN Series 2700

Säule: Stahlsäule 2,5% SP 1000 auf Chromosorb G AW-DMCS,
1,8 m Länge, 1/8", mesh 80-100 (Perkin Elmer)

Säulentemperatur: Programm 80-220°C 2°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 280°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 230°C

Gaschromatogramm und identifizierte Verbindungen im theor.
Teil unter Abb.7, Tabelle E.

A_{5b} ergibt bei der Destillation im Hochvakuum farblose Kristalle, Schmp. 122°C (Zers.)

Identifizierung:

4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9)

IR(KBr): 3200, 1690, 1630 cm⁻¹

MS: m/e (60, M⁺), 71(12), 55(30), 44(15), 43(100)

Bei A_{5c} gehen bei der Destillation gelbe Kristallnadeln über,
Schmp. 170-176°C (Zers.)

Identifizierung:

2-Furfuryliden-4-hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (11)

Hergestellt nach einer Vorschrift von Th. Severin und U.

Krönig¹⁸⁾, Vergleich des IR- und NMR-Spektrums

Fraktion B₅ und C₅ werden mit Hilfe des GC-MS-Systems aufgetrennt und untersucht. Modell, Säule und Betriebsbedingungen entsprechen denen bei der Identifizierung von A_{5a}.

Die Gaschromatogramme sowie die Massenspektren sind im theor. Teil zu finden: Abb.8 und 9, Tabelle E.

E. Untersuchung der farbigen Produkte aus Xylose Bräunungsreaktionen

1. Isolierung von 2-Isopropyliden-4-hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (20)

70 g Xylose werden mit 27 g Methylaminlösung und 18 g Eisessig in 540 g Wasser 2 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Anschließend wird die wäßrige Phase nochmals 12 h im Perforator mit Äthylacetat/Aceton 3:1 extrahiert. Die organische Phase trocknet man mit K₂CO₃ und dampft i.Vak. ein. Der Rückstand wird auf Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittel Äthylacetat/Benzol 1:1 chromatographiert. Die unter UV-Licht ($\lambda=254$ nm) durch Fluoreszenzlöschung sichtbare Schicht bei einem Rf-Wert von 0,45-0,5 trennt man ab. Man reinigt das durch Elution vom Kieselgel

gewonnene Öl durch Destillation im Hochvakuum. Es gehen bei 0,1 Torr und 110°C gelbe Kristalle über.

Schmp. 110°C, Ausb. 0,05% bez. auf Xylose

$C_6H_{10}O_3$ (154,15) Ber. C 62,32 H 6,53

Gef. C 62,15 H 6,40

MS: m/e 154(100, M⁺), 83(98), 43(77)

IR(KBr): 3140, 1685, 1600 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ =7,97(s, CH₃), 7,7(s, CH₃), 7,67(s, CH₃)
6,5(s, OH)

UV(H₂O): $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 265 \text{ nm}(3,93), 360 \text{ nm}(3,09)$

2. Synthese von 2-Furfuryliden-4-hydroxy-5-methyl-2,3-di- hydro-furan-3-on (11)

342 mg 9 werden mit 600 mg Furfurol, 4 Tropfen Piperidin und 4 Tropfen Eisessig in 3 ml Äthanol bei Raumtemperatur 1 h gerührt. Es scheiden sich rotgelbe Kristalle ab, die durch Hochvakuumsublimation gereinigt werden. Bei 0,1 Torr und 90°C gehen gelbe Kristalle über.

Schmp. 170-176°C (Zers.), Ausb. 47% bez. auf 9

$C_{10}H_8O_4$ (192,1)

IR(KBr): 3200, 1690, 1605 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ =7,56(s, CH₃), 3,43(dd, CH, J=4Hz), 3,20(s, CH), 2,95(d, CH, J=4Hz), 2,39(d, CH, J=2Hz)

UV(H₂O): $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 360 \text{ nm}(3,8)$

3. Synthese von 2,3-Dihydro-2-furfuryl-4-hydroxy-5-methyl-furan-3-on (25)

0,001 Mol 11 werden in 3 ml Wasser gelöst. Man gibt eine wäßrige Lösung von 0,0005 Mol Natriumborhydrid dazu und läßt 2 h stehen. Dann säuert man mit 0,1N HCl an und schüttelt 3 x mit CH_2Cl_2 aus. Die organischen Phasen werden vereinigt, i.Vak. eingeengt und auf Kieselgel (PSC-Platte) mit Benzol/Äthylacetat 3:7 chromatographiert. Die bei einem R_f -Wert um 0,8 liegende fluoreszenzlöschende Hauptzone wird ausgekratzt, mit Methanol eluiert und i.Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand unterwirft man einer Hochvakuumsublimation, wobei sich farblose Kristalle abscheiden.

Schmp. 95-100°C (Zers.), Ausb. 14% bez. auf 11

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ (194,14) Ber. C 61,85 H 5,19

Gef. C 61,80 H 5,05

IR(KBr): 3200, 1695, 1605 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ =7,97(s, CH_3), 7,34-6,44(2q, CH_2 , J=4Hz), 5,46-5,14(2q, CH, J=4Hz, J=9Hz), 3,75(m, $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}$), 2,6(d, J=2Hz, $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}$)

UV(H_2O): λ_{max} (log ϵ) = 285 nm(3,65)

4. Untersuchung der Xylose Bräunungsprodukte mit Hilfe der UV-Spektroskopie

150 g Xylose werden mit 93 g Methylaminlösung und 75 g Weinsäure in 300 g Wasser 2 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Der mit CH_2Cl_2 gewonnene Extrakt wird mit Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den gesamten öli-

gen Rückstand bringt man in wenig CH_2Cl_2 gelöst auf eine mit Kieselgel beschickte Trennsäule. Die Glassäule besitzt die Dimensionen 30 x 2,5 cm und ist trocken unter Wasserstrahlvakuum mit Kieselgel Woelm für Trockene Säulenchromatographie, Akt.III, gestopft. Vor dem Aufbringen des Extraktes wird die Säule mit CH_2Cl_2 befeuchtet, dann eluiert man mit CH_2Cl_2 .

- a) Es wird eine orange Zone abgetrennt, die unter UV-Beleuchtung eine fluoreszenzlöschende Hauptzone enthält.
- b) Nach Abtrennung der Zone a wird eine breite, rotbraune Zone über die Kieselgelsäule transportiert. Auf dem Dünnschichtchromatogramm und im UV-Licht ($\lambda=254$ nm) sieht man eine fluoreszenzlöschende Hauptschicht und einige in geringer Menge auftretende Komponenten.
- c) Schließlich läßt sich noch eine dunkelrote Zone abtrennen, die aus zwei gelben, einem breiten und mehreren kleinen fluoreszenzlöschenden Flecken besteht.

Die Eluate a,b,c werden i.Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Rückstände löst man jeweils in 5 ml H_2O . Nach Ermittlung der geeigneten Konzentration durch eine Verdünnungsreihe werden die Absorptionen der Eluate im Bereich von 200-500 nm am Zeiss Spektralphotometer PMQ II gemessen. Die Auswertung der erhaltenen UV-Spektren ist aus dem theor. Teil zu ersehen.

F. Bräunungsreaktionen von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (9)

228 mg 9 werden mit 240 mg Eisessig und 372 mg Methylamin-

(Molverhältnis 1:2:2) im Ölbad auf 130°C Innentemperatur erhitzt. Die erkaltete Schmelze löst man in 5 ml H₂O und schüttelt die wäßrige Lösung 3 x mit CH₂Cl₂ aus. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und i.Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand destilliert man im Hochvakuum bei 1-0,1 Torr bis 150°C. Die in die Destillationsbrücke übergehende Fraktion wird mit wenig Methanol verdünnt und gaschromatographisch aufgetrennt.

Modell: VARIAN Aerograph Series 1400

Säule: Stahlsäule 1/8", 2,5 m Länge, 2,5% SP 1000 auf Chromosorb G AW-DMCS. 80-100 mesh (Perkin Elmer)

Säulentemperatur: Programm 60-220°C 4°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 250°C

Identifizierung: durch das GC-MS-System

Gaschromatographie, Massenspektrometrie, Modell, Säule und Betriebsbedingungen siehe unter D, Id. A₅a.

Das Gaschromatogramm sowie die Strukturvorschläge für die identifizierten Verbindungen sind aus dem theor. Teil Abb. 15, Tabelle F zu entnehmen.

G. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in neutralem Milieu

180 g Fructose werden mit 93 g Methylaminlösung und 75 g Weinsäure in 300 g Wasser 2 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete wäßrige Lösung wird 12 h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Die CH₂Cl₂-Phase trocknet man mit Na₂SO₄ und dampft i.Vak. ein. Dann wird der Rückstand aus

einer Retorte bei 1-0,1 Torr bis 160°C destilliert. Man erhält drei Fraktionen:

A₆ in der Destillationsbrücke

B₆ in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle

C₆ in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle

Aufarbeitung der einzelnen Fraktionen

A₆ wird in wenig Methanol aufgenommen und gaschromatographisch aufgetrennt.

Modell: VARIAN Aerograph Series 2800

Säule: Stahlsäule 5% Carbowax 6000 auf Chromosorb W AW-DMCS, 1/8", 2,5 m Länge, mesh 60-80

Säulentemperatur: Programm 80-220°C 2°/min

Detektortemperatur: 250°C, Injektortemperatur: 250°C

Identifizierung: die aufgetrennten Peaks werden mit dem GC-MS-System untersucht.

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Aerograph Series 2700

Säule: Stahlsäule 5% Carbowax 6000 auf Chromosorb W AW-DMCS, 1/8", 2,5 m Länge, mesh 60-80

Säulentemperatur: Programm 60-220°C 2°/min

Injektortemperatur: 280°C, Detektortemperatur: 250°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 250°C

Die Gaschromatogramme sowie die identifizierten Verbindungen sind im theor. Teil abgebildet: Abb.16. Tabelle G.

Die in der mit Eis/Kochsalz- (B_6) und in der mit Methanol/ CO_2 -Falle (C_6) kondensierten Destillate werden mit dem GC-MS-System untersucht. Modell, Säule und Betriebsbedingungen wie bei der Identifizierung von A_6 . Gaschromatogramm und Strukturvorschläge siehe im theor. Teil unter Abb.17 und 18, Tabelle G.

H. Bräunungsreaktionen von Fructose mit Methylamin in Gegenwart eines Ionenaustauschers

135 g Fructose werden mit 250 g Ionenaustauscher Amberlite IRC-84, der mit 23 g Methylaminlösung beladen ist, und 75 g Wasser 2 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten filtriert man den Ionenaustauscher ab und extrahiert die wäßrige Lösung 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Der organische Extrakt wird mit Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus einer Retorte bei 1-0,1 Torr bis $130^\circ C$ destilliert. Es gehen zwei Fraktionen über:

A_7 in der Destillationsbrücke
 C_7 in der mit Methanol/ CO_2 gekühlten Falle

Aufarbeitung von A_7

A_7 wird in Methanol gelöst und auf PSC-Kieselgelplatten im Fließmittel Benzol/Acetonitril 6:4 chromatographiert.

1. Bei einem Rf-Wert um 0,35-0,50 liegen zwei dicht aneinander grenzende fluoreszenzlöschende Schichten, die mit Methanol vom Kieselgel eluiert und der Sublimation im Hochvakuum unterworfen werden. Bei nochmaliger chromatographischer Auftrennung der eluierten Zonen im Laufmittel

Benzol/Äthylacetat 3:7 sieht man unter UV-Beleuchtung ($\lambda=254$ nm) eine im unteren Drittel des Chromatogramms nicht fluoreszenzlöschende Zone A_7a und eine im oberen Drittel liegende fluoreszenzlöschende Zone A_7b .

A_7a und A_7b werden ausgekratzt, mit Methanol eluiert und i.Hochvak. destilliert. Die in die Destillationsbrücke übergehenden Öle werden mit Methanol verdünnt und im GC-MS-System untersucht.

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Aerograph Series 2700

Säule: Stahlsäule 5% Carbowax 20 M auf Kieselgur, 5 m Länge, 1/8"

Säulentemperatur: Programm 80-150°C 4°/min, 150-190°C 2°/min, 190-220°C 1°/min

Detektortemperatur: 280°C, Injektortemperatur: 250°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 250°C

2. Bei einem Rf-Wert von 0,75-0,90 liegt eine breite unter UV-Licht ($\lambda=254$ nm) fluoreszenzlöschende Zone. Man eluiert sie mit Methanol und unterwirft die i.Vak. eingedampfte methanolische Lösung der Hochvakuumdestillation (0,1 Torr, 140°C). Es geht ein gelbes Öl über, das nochmals auf Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Laufmittel Benzol/Äthylacetat 3:7 aufgetrennt wird. Beim Rf-Wert von 0,7-0,8 resultiert eine fluoreszenzlöschende Zone A_7c , die mit Methanol extrahiert und i.Hochvak. destilliert wird. Es bildet sich ein

gelbes, zähflüssiges Öl, das im GC-MS-System untersucht wird. Modell, Säule und Betriebsbedingungen wie bei der Identifizierung von A_7^a und A_7^b .

Die Gaschromatogramme sowie die identifizierten Verbindungen sind im theor. Teil unter Abb.19 und 20 und Tabelle H zu finden.

C_7 wird als Fraktion der leichtflüchtigen Reaktionsprodukte direkt der GC-MS-Analyse unterworfen. Modell, Säule und Betriebsbedingungen entsprechen denen der Identifizierung von A_7 .

I. Methylierung von Fructose/Methylamin Bräunungsgemischen

180 g Fructose werden mit 93 g Methylamin (35 proz.wäßr.Lösung) und 75 g Weinsäure in 300 g Wasser 2 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 12 h im Perforator mit Methylenchlorid. Die CH_2Cl_2 -Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den dunkelbraunen Rückstand löst man in 20 ml THF (wasserfrei) und gibt unter Rühren 20 ml CH_3J und 260 mg NaH (bzw. 520 mg NaH-Suspension in 50% Öl) dazu. Die Mischung wird 4 h bei $0^\circ C$ gerührt und anschließend filtriert. Das Filtrat dampft man i.Vak. ein und trägt den Rückstand gleichmäßig auf eine mit Aluminiumoxid beschickte Säule auf. Die Glassäule hat die Dimensionen 30 x 1,8 cm und ist trocken unter Wasserstrahlvak.mit Aluminiumoxid WOELM zur Trockensäulenchromatographie, Akt.I, gestopft. Man eluiert mit ca. 300 ml CH_2Cl_2 und dampft das aufgefangene orangegelbe Eluat i.Vak. ein.

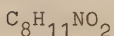
Der ölige Rückstand wird auf einer präparativen Kieselgelplatte (Merck 60 F 256, 2mm Schichtdicke) mit dem Laufmittel Benzol/Äthylacetat 3:7 chromatographisch aufgetrennt. Die Platte wird nach Entwicklung in 7 etwa gleich breite Zonen eingeteilt.

Man erhält so die Fraktionen $H_m a$ - $H_m g$, wobei der Index a die größte Laufgeschwindigkeit angibt. Man eluiert mit Methanol und zieht das Lösungsmittel i.Vak. ab. Die Rückstände werden i.Hochvak. bei 1-0,1 Torr destilliert. Dabei gehen folgende Fraktionen über:

$H_m a$: bis 90°C, farbloses Öl

Identifizierung:

2-Formyl-methoxymethyl-1-methyl-pyrrol (33)



MS: m/e 153(67, M^+), 152(37), 124(85), 122(100), 108(46), 94(45), 82(17), 67(27), 53(43), 42(48), 39(51)

IR(Film a.NaCl): 2930, 2820, 1665, 1480 cm^{-1}

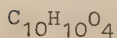
NMR($CDCl_3$): τ =9,5(s,CHO), 6,7(s, OCH_3), 6,1(s, NCH_3), 5,7(s, CH_2), 3,8(d,CH,J=4Hz), 3,1(d,CH,J=4Hz)

$H_m b$: bis 150°C, gelbes Öl, das bei dünnschichtchromatographischer Prüfung aus mehreren Substanzen besteht.

$H_m c$: bis 130°C, farblose Kristalle, gereinigt mit Petroläther

Identifizierung:

Isophthalsäuredimethylester



MS: m/e 194(45, M^+), 163(100), 149(25), 135(31), 120(10), 104(12), 103(17), 77(10), 76(15), 75(10), 50(12)

IR(KBr): 2980, 1720, 1500 cm^{-1}

H_md: bis 150°C, hellgelbes Öl

H_me: bis 150°C, gelbes Öl

H_mf: bis 150°C, hellgelbes Öl

H_mg: bis 150°C, hellgelbes Öl

Die Zonen H_mb, H_md, H_mf und H_mg werden gaschromatographisch aufgetrennt und mit Hilfe des GC-MS-Systems untersucht.

Gaschromatographie

Modell: VARIAN Series 2700

Säule: Stahlsäule 2,5m 5% Carbowax auf Chromosorb W AW-DMCS, 1/8", mesh 80-100

Säulentemperatur: Programm 80-220°C 4°/min

Detektortemperatur: 280°C, Injektortemperatur: 250°C

Massenspektrometrie

Modell: VARIAN Mat CH 7

Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemperatur: 250°C

Die Gaschromatogramme sowie die identifizierten Verbindungen sind aus dem theor. Teil ersichtlich (Tabelle I).

K. Untersuchungen zur Bildung des Fleischaromas

1 1/2 kg Rindfleisch werden im Schmortopf mit 100 ml heißem Erdnußöl von allen Seiten gebräunt. Dann gibt man 250 ml kochendes Wasser dazu und schmort das Fleisch bei geschlossenem Topf 2 h bei 120°C. Während der Kochzeit werden nach und nach 200 ml Wasser über das Fleisch gegossen.

Die Sosse wird 3 x im Scheidetrichter mit Petroläther ausgeschüttelt, um das Erdnußöl abzutrennen. Dann erfolgt folgen-

de Auarbeitung:

1. Die wäßrige Phase wird 12 h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Den organischen Extrakt trocknet man mit Na_2SO_4 und dampft i.Vak. ein. Den Rückstand destilliert man i.Hochvak. bei 1-0,1 Torr. Es gehen sieben Fraktionen über:

A_k : in der Destillationsbrücke bis 60°C , farbloses Öl

B_k : in der Destillationsbrücke bis 120°C , hellgelbes Öl

C_k : in der Destillationsbrücke bis 150°C , hellgelber Film

D_k : in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle bis 120°C ,
durchsichtiger Beschlag

E_k : in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle bis 150°C ,
durchsichtiger Beschlag

F_k : in der mit Methanol/ CO_2 gekühlten Falle bis 120°C ,
farblose Tröpfchen

G_k : in der mit Methanol/ CO_2 gekühlten Falle bis 150°C ,
farblose Tropfen

Wegen der geringen Ausbeute wurden die Fraktionen nur gaschromatographisch aufgetrennt.

2. Die extrahierte wäßrige Lösung wird i.Vak. eingedampft und 24 h gefriergetrocknet. Den getrockneten Rückstand löst man in wenig Methanol. Die eingegangte methanolische Lösung wird aus einer Retorte bei 1-0,1 Torr fraktioniert destilliert. Es gehen sechs Fraktionen über:

A_w : in der Destillationsbrücke bis 120°C , hellgelber Beschlag

B_w : in der Destillationsbrücke bis 160°C , gelbe Tropfen

- C_w: in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle bis 120°C,
farbloser Beschlag
- D_w: in der mit Eis/Kochsalz gekühlten Falle bis 160°C,
gelbe viskose Tropfen
- E_w: in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle bis 120°C,
farblose Tropfen
- F_w: in der mit Methanol/CO₂ gekühlten Falle bis 160°C,
hellrote Tropfen

Für die Aufnahme der Spektren fanden folgende Geräte Verwendung:

Varian T 60 NMR Spectrometer

Perkin Elmer 257 Grating Infrared Spectrophotometer

Varian CH 7 Mass-Spectrometer

Varian Aerograph Series 1400

Varian Aerograph Series 2700

Varian Aerograph Series 2800

Zeiss Spectralphotometer PMQ II

Lebenslauf

Edith Manninger

geb. Schreiner

geboren am 18.6.1948 in Passau als
Tochter des Regierungsveterinärdirek-
tors Dr. Fritz Schreiner und seiner
Ehefrau Margot, geb. Kauschen,
verehelicht im September 1975 mit
Gebhard Manninger

Schulen

1954-1958 Volksschule in Pfarrkirchen
1958-1961 Oberrealschule in Pfarrkir-
chen

1961-1967 nat.-math. Gymnasium in
Bad Reichenhall

Reifeprüfung

Juli 1967

Berufsausbildung

WS 1967-SS 1972 Studium der Lebens=
mittelchemie an der Universität
München

Vorprüfung

November 1970

Staatsexamen

Juli 1972

Seit September 1972 arbeite ich unter Anleitung von Herrn
Prof. Dr. Th. Severin am Institut für Pharmazie und Lebens=
mittelchemie der Universität München an der vorliegenden
Dissertation.

